

---

# miljø og sundhed

Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter

Supplement nr. 4, juni 2004

---

## Fostre, børn og miljø

### Temanummer

Kemikalier og dyremodeller

Effekter af stress i fostertilværelsen

Biomonitoring af børn

Børn og allergi.

Stiger forekomsten af allergi og hvorfor?

Epidemiologisk vurdering af risici ved prænatal methyalkviksølv eksponering

---

---

## Indhold

Forord.....	3
Kemikalier og dyremodeller.....	5
Effekter af stress i fostertilværelsen .....	14
Biomonitoring af børn .....	25
Børn og allergi. Stiger forekomsten af allergi og hvorfor?32	
Epidemiologisk vurdering af risici ved prænatal methylkviksølveksponering.....	39

## Miljø og sundhed

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

## Udgives af:

Indenrigs- og Sundhedsministeriets  
Miljømedicinske Forskningscenter

## Redaktion:

Steffen Loft (ansv.)  
Lis Keiding  
Hilde Balling

10. årgang, supplement nr. 4, juni 2004.

ISSN, trykt udgave 1395-5241

ISSN, elektronisk udgave 1601-4146

URL: <http://www.ismf.dk/blad/msS04.pdf>

## Fostre, børn og miljø

I forhold til miljøet kan børn, også ufødte børn, være en særlig udsat gruppe mennesker. Det skyldes bl.a. at børns væv, organer og centralnervesystem er mere modtagelige end voksnes over for påvirkninger fra miljøfaktorer. Desuden indånder, spiser og drikker børn mere i forhold til deres kropsvægt, hvilket gør, at de relativt set eksponeres mere for miljøfaktorer end voksne. Børns adfærd er også anderledes - de er i tættere kontakt med jord og de sutter på ting.

Der er da også megen fokus på børn og miljø i disse år.

Europakommissionen vedtog i 2003 en europæisk strategi for miljø og sundhed - det såkaldte SCALE – initiativ (Science, Children, Awareness, Legislation, Evaluation). Strategien omhandler indsatsen i perioden 2004-2010 og et særligt tema er beskyttelse af børn.

Børnene er også i fokus på den 4. WHO ministerkonference om miljø og sundhed i Budapest i juni 2004 med titlen ”The future of our children”. Her forventes miljø- og sundhedsministrene i medlemslandene at tilslutte sig ”Children`s Environment and Health Action Plan for Europe (CEHAPE)”.

Et af hovedformålene med CEHAPE er at foreslå indsatser specifikt rettet mod børn med henblik på at nedsætte/eliminere eksponeringer, der er særligt relevante for børn og som ikke er tilstrækkeligt omfattet af de eksisterende strategier for miljø og sundhed.

Indenrigs- og Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter har også sat fokus på børnene med afholdelsen af en temadag den 12. maj 2004 om ”Fostre, børn og miljø”, der er et særligt prioriteret forskningstema i centrets strategiplan for 2004-2006 ”Forskning for forebyggelse”.

Redaktionen

---

---

## Forord

Det europæiske charter om miljø og sundhed blev vedtaget af miljø- og sundhedsministrene i WHO's europæiske region på den 1. ministerkonference i Frankfurt i 1989 og efterfulgt af erklæringerne på den 2. og 3. ministerkonference i henholdsvis Helsinki i 1994 og i London i 1999. I de forløbne år har medlemslandene udarbejdet nationale handlingsplaner for miljø og sundhed, således i Danmark den første samlede strategi for miljøfaktorer og sundhed "Miljø og sundhed hænger sammen" i 2003.

Den 4. WHO ministerkonference finder sted i Budapest fra den 23.- 26. juni 2004 under titlen "The future of our children" og her forventes miljø- og sundhedsministrene i medlemslandene i WHO's europaregion at tilslutte sig "Children's Environment and Health Action Plan".

I forbindelse hermed har ISMF afholdt en temadag "Fostre, børn og miljø" på Arbejdsmiljøinstituttet i København den 12. maj 2004 og som opfølgning herpå foreligger nu dette temanummer. Planlægning af temadag og temanummer er varetaget af en arbejdsgruppe med følgende sammensætning:

Seniorforsker, ph.d. Ulla Hass, Danmarks Fødevarer- og Veterinærforskning,  
Forsker, ph.d. Karin Sørig Hougaard, Arbejdsmiljøinstituttet,  
Lektor, ph.d. Tina Kold Jensen, IST Miljømedicin, Syddansk Universitet, Odense,  
Afdelingslæge Lis Keiding, Sundhedsstyrelsen,  
Lektor, ph.d. Lisbeth E. Knudsen, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet,  
Hilde Balling, faglig sekretær for ISMF og  
Anette Bindslev, sekretær for ISMF.

Til temanummeret har Ulla Hass og Karin Sørig Hougaard bidraget med en artikel, der gennemgår dyreeksperimentelle metoder til at undersøge, om kemiske stoffer kan påvirke fostre og afkom og med fokus på metodernes anvendelighed til at forudsige effekter på fostre og børn.

Baseret på resultater fra undersøgelser i mennesker og i dyreforsøg skriver Karin Sørig Hougaard om stress i fostertilværelsen - hvordan udsættelse for stress i fosterlivet kan have betydning for fostrets udvikling og funktion, også efter fødslen.

Risikovurdering af en miljøpåvirkning bygger på oplysninger om påvirkningens farlighed og graden af eksponering for denne, men pålidelige eksponeringsmål kan være vanskelige at opnå, både for børn og voksne. Lisbeth E. Knudsen og Hilde Balling skriver om biomonitoring af børn, der kan give oplysninger om aktuelle eksponeringer for miljøfaktorer hos børn - data, som kan anvendes til risikovurderinger.

Arne Høsts og Anne Estmann Christensens artikel giver en oversigt over forekomst af allergiske sygdomme hos børn og gennemgår mulige årsager til den rapporterede stigning i forekomsten af allergiske sygdomme hos børn.

Tina Kold Jensen m.fl. skriver om epidemiologisk vurdering af risici ved udsættelse for methykviksølv i fosterlivet og gennemgår og diskuterer fundene i 3 prospektive kohorteundersøgelser fra henholdsvis New Zealand, Færøerne og Seychellerne.

Temanummeret giver således et indblik i aktuelle problemstillinger i relation til børn og miljø og vi håber, at mange vil have udbytte af at læse dette 4. temanummer fra ISMF.

København, juni 2004  
Arbejdsgruppen



---

# Kemikalier og dyremodeller

Af Ulla Hass<sup>1</sup> og Karin Sørig Hougaard<sup>2</sup>

---

## Dyremodeller og OECD Test Guidelines

Der anvendes mange forskellige dyreeksperimentelle metoder til at undersøge om kemiske stoffer kan påvirke fostre og afkom. Mange af disse metoder er standardiserede, og der er udviklet guidelines (vejledende metodeforskrifter), f.eks. i OECD. Metoderne anvendes til regulatorisk testning af kemiske stoffer. I det følgende vil disse metoder blive gennemgået og diskuteret med fokus på deres anvendelighed til at forudsige effekter på fostre og børn. Tabel 1 giver en oversigt over metoderne.

Andre standardiserede metoder er udviklet til at påvise effekter på reproduktionsevnen, f.eks. dominant letal test, undersøgelse af fertilitet ved gentagen parring samt 28-dages toksicitetstest. Disse metoder undersøger kun effekter på voksne dyr og er derfor ikke medtaget her.

## Design af forsøg

Ved design og anvendelse af dyremodeller skal der tages hensyn til mange faktorer, såsom valg af dyreart, doser, tidspunkt for dosering, eksponeringsvej og håndtering af dyrene.

De normalt anvendte *dyrearter* er rotter, mus og kaniner. Der er væsentlige forskelle mellem mennesker og rotter, især i forbindelse med f.eks. hjernens udvikling i forhold til fødselstidspunktet. Således svarer udviklingen af hjernen hos en nyfødt rotte til hjernens udvikling hos et menneskefoster i 6. måned, mens hjernen hos en ca. 1 uge gammel rotteunge svarer til et nyfødt barns. Det betyder, at den udvikling af hjernen, der sker i 3. trimester af graviditeten hos menneskefostret, først finder sted efter fødslen hos rotter. Dette kan give forskel-

le i eksponeringen af hhv. rotter og mennesker i denne periode, da menneskefostret eksponeres via placenta (moderkagen), mens rotteungen eksponeres via modermælk. Disse forskelle skal tages i betragtning, når data fra forsøgsdyr overføres til mennesker. I visse tilfælde, hvor eksponeringen via placenta er højere end via modermælk, bør det overvejes at dosere rotteungerne direkte for at opnå samme eksponering, som menneskefostre kan udsættes for via placenta.

De *doser*, der anvendes i dyreforsøg, er normalt højere end den forventede eksponering af mennesker. Der er flere årsager til dette. For det første har dyreforsøg en begrænset følsomhed som følge af det begrænsede antal dyr, der undersøges. For det andet kan mennesker udsættes for kemiske stoffer i meget lang tid, evt. hele livet, mens eksponeringsperioden i dyreforsøg er kortere. Sidst, men ikke mindst, tyder sammenligninger af data fra mennesker med data fra dyreforsøg på, at mennesker er mere følsomme end de normalt anvendte dyrearter, når dosen udtrykkes i mg/kg (Jakobsen and Meyer 1989). Det højeste dosisniveau i dyreforsøg skal normalt vælges, så der forventes begrænsede toksiske effekter på de voksne dyr (OECD 1983, OECD 1994, OECD 1999).

*Doseringsperioden* har betydning for de effekter, der kan opstå, da der er forskellige følsomme perioder under udviklingen af individet. F.eks. kan der kun induceres misdannelser i den periode, hvor organerne anlægges og udvikles.

*Eksponeringsvejen* skal ideelt set være den samme som den, der forventes hos mennesker. På arbejdspladser sker den væsentlige eksponering via indånding eller via huden, men oral dosering med sonde eller i foderet anvendes ofte og anbefales i eksisterende guidelines (OECD 1983, OECD 1994, OECD 1999). En

---

<sup>1</sup> Afdeling for Toksikologi og Risikovurdering, Danmarks Fødevarer- og Veterinærforskning

<sup>2</sup> Arbejds miljøinstituttet

Tabel 1. Oversigt over OECD test guidelines for undersøgelser af reproduktionsskader.

Test	Design	Effekt mål	Fordele/begrænsninger
OECD TG 416 To-generations- forsøg	Eksponering fra før parring i mindst 3 måneder indtil fravæning af 2. generation. 3 doser plus kontrol N = 20 drægtige hunner per hold	Fertilitet Østruscyklus og sædkvalitet Vækst, udvikling og overlevelse Anogenital afstand i 2. generation, hvis der er effekt på kønsfordeling eller kønsmodning i 1. generation Kønsmodning Histopatologi og vægt af reproduktionsorganer, hjerne og målorganer	+ eksponering i alle følsomme perioder + effekter undersøges i F1 og F2 + inkluderer undersøgelse af sædkvalitet og østruscyklus - anogenital afstand undersøges kun i F2, hvis der er indikation i F1 - brystvorter undersøges ikke - misdannelser af reproduktions- organer undersøges kun i 1 afkom per køn per kuld
OECD TG 415 Et-generations- forsøg	Eksponering fra før parring i mindst 3 måneder indtil fravæning af 1. generation. 3 doser plus kontrol N = 20 drægtige hunner per hold	Fertilitet Vækst, udvikling og overlevelse Histopatologi og vægt af repro- duktionsorganer, hjerne og mål- organer	+ eksponering dækker det meste af de følsomme perioder - ingen eksponering fra fravæning til kønsmodning - ikke opdateret til at undersøge samme effekter som to-genera- tionsforsøg
OECD TG 414 Prenatal developmental toxicity study (Teratology study)	Mindst fra implantation til 1- 2 dage før forventet fødsel 3 doser plus kontrol N = 20 drægtige hunner per hold	Implantationer*, resorptioner (døde fostre) Fostervægt Morfologiske variationer og mis- dannelser	+ misdannelser undersøges i alle fostre - doseringsperiode omfatter kun prænatal perioden - undersøges kun effekter på fostre
OECD TG 426 Developmental neurotoxicity study (proposal)	Mindst fra implantation til fravæning (PND 20) 3 doser plus kontrol N = 20 anbefales, mindst 16 kuld per hold	Fødsel og drægtighedslængde Vækst, udvikling og overlevelse Fysisk og funktionel udvikling Adfærsændringer som følge af CNS og PNS effekter** Hjernevægt og neuropatologi	+ eksponering dækker det meste af de følsomme udviklingsperioder - ingen eksponering fra fravæn- ning til kønsmodning - social adfærd, inkl. parrings- adfærd undersøges ikke
OECD TG 421 and 422 Reproduction/ Developmental toxicity screening test	Fra 2 uger før parring indtil mindst 4 dage efter fødsel 3 doser plus kontrol N = 8-10 drægtige hunner per hold	Fertilitet Fødsel og drægtighedslængde Vækst, udvikling og overlevelse af fostre og nyfødte	+ kortidstest - begrænset eksponeringsperiode - begrænset antal effektmål - begrænset følsomhed p.gr.a. færre dyr per hold

Modificeret udfra Hass et al. 1994.

\* Implantation = indplantning (af befrugtet æg).

\*\* CNS = centralnervesystem, PNS= perifere nervesystem.

væsentlig forskel mellem inhalationseksponering og oral dosering er, at der ikke er nogen "first-pass effect" i leveren for inhalerede kemiske stoffer. Dermed føres inhalerede kemiske stoffer direkte med blodet til placenta, før stofferne når leveren. Inhalationsforsøg er dog vanskelige at udføre omkring fødselstidspunktet og derfor indstilles eksponeringen af dyrene ofte nogle dage omkring fødselstidspunktet.

*Standardisering af kuldstørrelse ("culling")* til 8 unger nogle dage efter fødslen anvendes ofte, og proceduren er beskrevet bl.a. i guidelines for generationsforsøg (OECD 1983). Et argument for standardisering af kuldstørrelse er, at der kan opnås en mere ensartet vægt ved fravæning af ungerne, fordi ungevægten afhænger af kuldstørrelsen. Et studie af data fra omkring 500 kuld har dog vist, at standardisering af kuldstørrelse kun førte til en højere gennem-

---

snitsvægt i kuldene, mens variationen var uændret (Palmer 1986). Standardisering af kuld-størrelse kan medføre, at 25-40% af ungerne aflives kort tid efter fødslen og kan føre til bias, hvis der tilfældigvis aflives påvirkede unger (Palmer 1986).

Effekter på unger, især vægt og adfærd, kan opstå som følge af effekter på moderen. For eksempel kan påvirkninger af moderens yngelpleje eller ammefunktion påvirke ungernes vækst og overlevelse. En metode til at undersøge dette er *cross-fostering*, hvor unger, der har været eksponeret før fødslen, opfostres af ikke-eksponerede mødre og omvendt. Dette kræver anvendelse af langt flere dyr og mere arbejdskraft og anvendes derfor sjældent i indledende forsøg.

*Indhusning og håndtering* af dyrene kan påvirke resultaterne i dyreforsøg. F.eks. kan hyppig håndtering af ungerne ændre dyrenes fysiologiske stressreaktion og deres adfærd i tests for aktivitetsniveau og indlæring og hukommelse. For at kontrollere sådanne påvirkninger er det væsentligt, at indhusning og håndtering af dyrene er standardiserede med hensyn til f.eks. temperatur, luftfugtighed, støj, lys og bure. (Barlow and Sullivan 1975).

### **Et-, to- og fler-generationsforsøg**

Guidelines for udførelse af et-, to- og fler-generationsforsøg er udgivet af bl.a. US-FDA, OECD (1983, 1999) og EU. I EU skal bl.a. nye kemiske stoffer (introducerede efter 1980) med et produktionsvolumen på over 100 tons per år undersøges i 2-generationsforsøg.

I et-generationsforsøg doseres hanner i mindst en sædcelledannelsesperiode (omkring 56 dage hos mus og 70 dage hos rotter) inden parringen. Hunnerne doseres mindst svarende til to fulde østruscyklus-perioder (omkring 10-12 dage). Herefter doseres kontinuert i parringsperioden, og for hunnernes vedkommende også under drægtighed og laktation.

Doseringsperioden i to-generationsforsøget starter som i et-generationsforsøget, men fort-

sætter indtil fravæning af 2. generation. Effektmålene i ungerne er overlevelse, vækst og histopatologi af reproduktionsorganer, hjerne og målorganer. I den opdaterede guideline for OECDs to-generationsforsøg er tilføjet undersøgelser af sædkvalitet og østruscyklus hos forældre og afkom (OECD 1999).

### **Prenatal developmental toxicity studies (tidl. teratogenforsøg)**

Eksisterende guidelines inkluderer sådanne fra USFDA, OECD and EU (Meyer et al., 1989). I EU skal bl.a. nye kemiske stoffer (introducerede efter 1980) med et produktionsvolumen på over 100 tons per år undersøges i sådanne forsøg.

De drægtige dyr doseres i organdannelsesperioden, der er den mest følsomme periode for inducering af misdannelser. Dagen før nedkomst aflives de drægtige hunner og fostrene udtages og undersøges. De væsentligste effektmål er resorptioner (døde fostre), fostervægt samt misdannelser og anomalier af organer og skelet.

Metoden er oprindeligt udviklet til undersøgelse for misdannelser. I tidlige forsøg kan ses en tendens til kun at opfatte misdannelser og fosterdød som relevante effektmål. I vore dage anses alle manifestationer af effekter på fostre (død, strukturelle anomalier, vækstændringer og funktionelle forandringer) at være af betydning (OECD 1989). Som følge af dette har metoden skiftet navn fra "teratogenforsøg" til "prenatal developmental toxicity test". Dertil kommer, at eksponeringsperioden er forlænget til dagen efter fødslen i den opdaterede OECD guideline 414 (OECD 1999).

### **Developmental neurotoxicity studies**

En række kemiske stoffer kan påvirke hjernens udvikling og adfærden hos dyr og mennesker. En guideline for "developmental neurotoxicity study" blev udsendt af USEPA i 1991 (USEPA 1991). OECD har de senere år udviklet et udkast til en lignende guideline, kaldet "TG 426 Developmental Neurotoxicity Study" (OECD

---

2003) og den forventes at blive accepteret i OECD snarest.

Developmental neurotoxicity forsøg er udviklet for at få data om viden om funktionelle og morfologiske ændringer af nervesystemet hos afkommet som følge af eksponering af mødrene under drægtighed og laktation.

Metoden er designet til at blive udført som et separat forsøg, men effektmålene kan også inkorporeres i et 2-generationsforsøg.

Undersøgelserne af ungerne inkluderer observationer af fysisk udvikling og udvikling af reflekser samt af neurologiske og adfærdsmæssige anomalier. Der indgår adfærdstestning af motorisk aktivitet og funktion, af sansefunktion og af indlæring og hukommelse samt undersøgelse af hjernevægt og neuropatologi. Undersøgelserne finder dels sted under udviklingen, dels når dyrene er blevet voksne.

### **Reproduction/Developmental toxicity screening tests**

OECD har udviklet guidelines for screeningsforsøg kaldet "Reproduction/Developmental toxicity screening tests" (OECD 1994). "Combined repeat dose and reproduction/developmental toxicity screening test" kombinerer et 28-dages toksicitetsforsøg og et reduceret et-generationsforsøg, mens "Preliminary reproduction toxicity screening test" er et reduceret et-generationsforsøg.

Formålet med testene er at opnå begrænset information om kemiske stoffers effekter på forplantningsevne og fosterudvikling. Testene er ikke foreslåede som alternativ til eller erstatning for de eksisterende guidelines for generationsforsøg eller fosterskadeundersøgelser.

Doseringen af dyrene startes 2 uger før parring og fortsætter til 4 dage efter fødslen. Antallet af dyr er mindst 10 af hvert køn per hold. Der tilstræbes mindst 8 kuld per hold. Der undersøges effekter på fertilitet og fødsel og ungerne tælles, kønsbestemmes og vejes på dag 1 og 4 efter fødslen.

Testene giver kun begrænsede data vedrørende effekter på fostre og afkom.

Anvendeligheden af data fra et negativt forsøg, dvs. et forsøg uden effekt, er mere begrænset end data fra f.eks. generationsforsøg som følge af det lavere antal dyr per hold, den kortere eksponeringsperiode og det begrænsede antal effektmål.

### **Diskussion**

De regulatoriske guidelines anvendelighed til at forudsige effekter på fostre og børn afhænger bl.a. af, om der er foretaget eksponering af dyrene i de relevante perioder, dvs. de følsomme perioder, og de effekter, der undersøges. Derudover er relevansen for mennesker af data fra dyremodeller et vigtigt forhold.

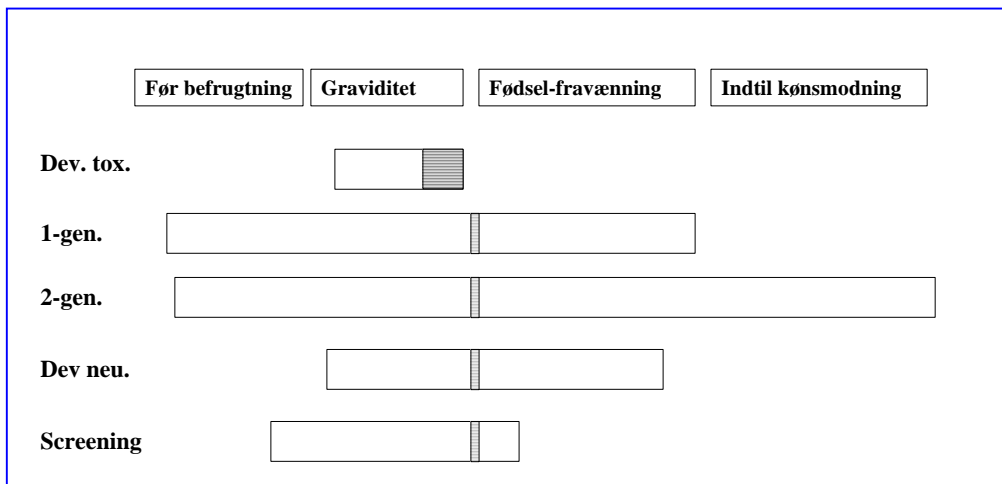
#### **Følsomme perioder**

De følsomme perioder for effekter på fostre og børn omfatter perioden før befrugtning, fosterudviklingsperioden og perioden fra fødsel til kønsmodning. To-generationsforsøget er unikt, da det er det eneste forsøg, hvor afkommet doseres i alle følsomme perioder (figur 1). I et-generationsforsøget bliver fostre og unger eksponeret indtil ungerne fravænnedes moderen. Der er derfor ikke eksponering af ungerne i perioden fra fravænnelse til kønsmodning.

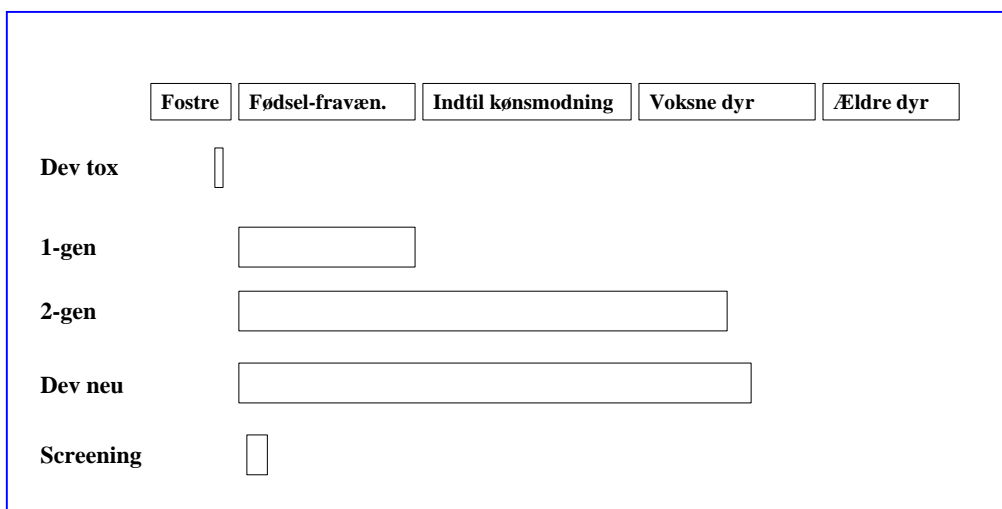
OECD TG 414 (Prenatal developmental toxicity study) er oprindeligt udviklet til undersøgelse af misdannelser, og de drægtige dyr aflives dagen før forventet fødsel. Årsagen til dette er, at rottemødre ofte spiser misdannede unger umiddelbart efter fødslen. Forsøget kan afsløre effekter, der opstår inden fødslen og som er synlige hos fuldt udviklede fostre.

OECD TG 421/422 (Reproduction/developmental toxicity screening test) er udviklet med det formål at få indledende, begrænset information om reproduktionsskader, inklusive effekter på fostre og unger. Doseringsperioden starter få uger før parring af dyrene og fortsætter i drægtighedsperioden, indtil ca. 4 dage efter fødslen. Det betyder, at det ikke kan vurderes, om et kemisk stof kan forårsage effekter





Figur 1. Doseringsperioder i OECD Test Guideline forsøg. De skraverede områder angiver perioder, hvor der ikke er doseret i developmental toxicity forsøg, der er udført før opdatering af OECD 414, og hvor doseringen kan indstilles omkring fødselstidspunktet i de øvrige forsøg.



Figur 2. Tidspunkter, hvor der undersøges for effekter i OECD Test Guideline forsøg.

som følge af eksponering af rotteunger efter dag 4. Da udviklingen af rotteunger, som tidligere nævnt, i den første uge efter fødslen svarer til udviklingen af menneskefostret i 3. trimester af graviditeten, er dette en væsentlig begrænsning ved dette forsøgsdesign.

Eksponeringsperioden i "Developmental neurotoxicity study" er i drægtigheds- og laktationsperioden, men omfatter ikke perioden efter fravæning indtil kønsmodning. Da hjer-

nens udvikling fortsætter indtil kønsmodning er dette en potentielt væsentlig begrænsning.

### Effekter

Effekter på fostre og børn kan vise sig på ethvert tidspunkt af livet. De regulatoriske testmetoder omfatter især undersøgelser af fostre og unger (figur 2). Undersøgelser af effekter, der viser sig senere hos voksne dyr, såsom effekter på forplantningsevne og hjernens

---

funktion indgår også i de regulatoriske guidelines.

OECD TG 414 er velegnet til at påvise resorptioner, dvs. *fosterdød*. Forsøg, hvor doseringen starter før det befrugtede æg implanteres, giver også mulighed for vurdering af præimplantationstab<sup>3</sup>.

Generationsforsøg kan kun i begrænset omfang anvendes til undersøgelser af *neonatal død* og  *misdannelser*, da de hyppigst anvendte dyrearter ofte æder døde eller misdannede unger umiddelbart efter fødslen. En effekt kan derfor kun ses indirekte som en mindsket kuld størrelse. Er der kun få påvirkede unger vil reduktionen i kuld størrelse være lille sammenlignet med den normale variation i kuld størrelse, og effekten vil derfor ikke kunne påvises. Præimplantationstab og resorptioner (fosterdød) kan også kun observeres indirekte, som mindsket kuld størrelse. Følsomheden for sådanne effekter kan derfor være lav.

*Fostervægt, fødselsvægt og ungerne vækst* registreres i regulatoriske guidelines. Ved analyse af resultaterne er det væsentligt at korrigere for kuld størrelse og kønsfordeling i kuldene, da begge disse faktorer har indflydelse på vægten af afkommet. Ændringer i ungerne vækst er en følsom indikator for effekt og kan i nogle forsøg være den eneste indikator på effekter på ungerne. Det kan være uklart om påvirkning af væksten er forbigående eller vedvarende. Da der er begrænset viden om langtidseffekter, som følge af selv kortvarige påvirkninger af væksten hos unger, anvendes påvirkninger af ungerne vægt ved vurdering af generationsforsøg, f.eks. til fastsættelse af NOAEL<sup>4</sup> (OECD 1989).

*Misdannelser* undersøges normalt i OECD TG 414. Følsomheden for opdagelse af sjældne misdannelser er begrænset som følge af antallet af dyr per hold. Med den normalt anvendte hold størrelse på 20 drægtige dyr vil det kun

være muligt at påvise stigninger i misdannelsesraten ved anvendelse af høje dosisniveauer, eller når stoffet er meget potent (Palmer 1981). For at kunne vurdere fosterskadende effekter af kemiske stoffer er det derfor vigtigt at inkludere data om mindre anomalier, fosterdød og -vækst. Misdannelser af organer, der fortsætter deres udvikling sidst i fosterudviklingsperioden, f.eks. reproduktionsorganer og hjernen, kan kun påvises i den opdaterede OECD TG 414, hvor doseringsperioden er forlænget til dagen inden nedkomst. Dibutylphthalat er et eksempel på et stof, hvor eksponering fra dag 6-15 i drægtighedsperioden ikke viste effekter på hanfostrenes kønsorganer, mens eksponering efter dag 15, hvor hanfostrenes kønsorganer udvikles, viste væsentlige forstyrrelser af den morfologiske og funktionelle udvikling af hannernes reproduktionssystem (Mylchreest et al., 1999). Visse misdannelser af f.eks. reproduktionsorganer, som hypospadi og kryptorkisme, viser sig først omkring kønsmodningstidspunktet. Disse misdannelser kan derfor ikke undersøges i OECD TG 414, men kun i to-generationsforsøg, hvor dyrene undersøges som unge voksne. I denne forsøgstype undersøges kun 1 unge per køn per kuld i modsætning til OECD TG 414, hvor alle fostre undersøges. Misdannelser er normalt sjældne effekter, hvorfor to-generationsforsøget vil have en lav følsomhed for sådanne effekter.

Effekter på *hjernens udvikling og adfærd* undersøges i Developmental neurotoxicity study. Eksponeringsperioden afsluttes ved fravæning af ungerne. Hjernens udvikling fortsætter efter fravæningen indtil kønsmodning, hvorfor effekter induceret i denne periode ikke omfattes af guidelinen. Guidelinens adfærdstests dækker mange vigtige funktioner af nervesystemet, dog indgår relevante funktioner som social interaktion og parringsadfærd ikke i guidelines på nuværende tidspunkt.

Andre typer *funktionelle effekter*, der kan opstå under udviklingen, som f.eks. effekter på immunsystemet eller skjoldbruskkirtlen, er ikke omfattet af nogen guideline pt.

---

<sup>3</sup> Præimplantation = før indplantning (af befrugtet æg)

<sup>4</sup> NOAEL: No Observable Adverse Effect Level.

---

Effekter på *forplantningsevnen* undersøges ved at parre dyrene, så der kommer et kuld per par i to-generationsforsøg, et-generationsforsøg samt i screeningsforsøgene. Effekter på forplantningsevnen hos afkom kan kun undersøges i to-generationsforsøget. En række kemiske stoffer er vist at påvirke forplantningsevnen, men sådanne effekter observeres ofte først efter eksponering for ret høje dosisniveauer. Det er væsentligt at tage i betragtning, at hanrotter har en meget stor reservekapacitet af sædceller og kan få normalt afkom, selvom deres sædcelleantal er reduceret til 10% af det normale (Aafjes et al. 1980). På den baggrund er guidelinen for to-generationsforsøget inden for de senere år blevet opdateret, så sædkvaliteten undersøges. Undersøgelserne omfatter registrering af antal sædceller, antal normale/unormale sædceller samt sædcellernes bevægelighed. Sædcellernes evne til at befrugte ægget undersøges ikke. For at øge muligheden for at opdage effekter på forplantningsevnen kunne man inkludere undersøgelser af *in vitro* befrugtning. En anden mulighed er at anvende den såkaldte "continuous breeding protocol", hvor dyrene producerer mange kuld i træk i stedet for et enkelt kuld per par.

Undersøgelser af effekter, der først viser sig, når dyrene bliver ældre, indgår ikke i guidelinen. Den reproduktive alder for hunner er fra kønsmodning til menopause. Tidspunktet for kønsmodning undersøges i to-generationsforsøget, men tidspunkt for menopausens indtræden undersøges ikke. Det er derfor ikke muligt at vurdere om kemiske stoffer påvirker den reproduktive alder.

En væsentlig bekymring er muligheden for at påvirkning af neurotoksiske stoffer under udviklingen kan resultere i en hurtigere aldersbetinget forringelse af hjernens funktion. Dyreforsøg har vist, at udsættelse for nerveskadelige stoffer som methylkviksølv, methylazoxymethanol og ethanol i doser, der resulterer i få eller ingen neurotoksiske effekter i unge dyr, forårsagede markante effekter hos dyrene, når de blev gamle.

Et andet væsentligt område er den såkaldte "Barker hypotese", der peger på, at påvirkninger under udviklingen kan medføre permanent ændrede funktioner hos det voksne afkom. Hypotesen er baseret på epidemiologiske studier, der har vist, at lav fødselsvægt kan være forbundet med øget risiko for kardiovaskulære og metaboliske sygdomme samt neuroendokrine dysfunktioner hos voksne mennesker. Indikationer på sådanne effekter vil kunne ses i to-generationsforsøg, hvis påvirkningen under udviklingen forårsager effekter på ungerens vækst og overlevelse, men der foretages ingen specifikke undersøgelser af kardiovaskulære og metaboliske sygdomme.

### **Sammenligning af effektmål hos fostre og unger med effektmål hos voksne dyr**

Undersøgelser af effekter efter gentagen eksponering af voksne dyr efter de nuværende OECD guidelines giver oplysninger om potentialet for systemiske effekter ved undersøgelser af vækst, kliniske symptomer, hæmatologi, biokemi, organvægte samt patologi og histopatologi af organer. Derudover kan neurotoksisk effekt og kræft undersøges.

Undersøgelser af effekter, opstået under udviklingen, giver oplysninger om adskillige typer effekter, såsom misdannelser, vækstretardering, foster- og ungedød, forplantningsevne og effekter på hjernens udvikling og funktion. I de færreste tilfælde er kemiske stoffer undersøgt både i to-generationsforsøg, TG 414 og i TG 426, hvorfor kun nogle af de ovennævnte effekter på fostre og unger er belyst. Undersøgelser af systemiske effekter er ikke så omfattende som dem, der udføres efter gentagen eksponering af voksne dyr, idet f.eks. hæmatologi og biokemi ikke undersøges. Derudover er undersøgelser af organvægte, patologi og histopatologi begrænset til reproduktionsorganerne, hjernen og målorganer. Som følge af dette undersøges systemiske effekter på f.eks. lever- og nyrefunktion og immunsystem hos afkom normalt ikke.

---

For at have et tilstrækkeligt grundlag til sammenligning af følsomheden for kemisk påvirkning under udviklingen med følsomheden hos voksne er der behov for studier, hvor effektmålene er undersøgt på samme måde i de to aldersgrupper. Ideelt set kræver dette et to-generationsforsøg, der inkluderer effektmål for hjernens udvikling, suppleret med de samme effektmål, som indgår ved undersøgelser af effekter efter eksponering af voksne dyr.

### Anvendelse af data fra dyremodeller

Det er kun data fra mennesker, der kan give det endegyldige svar på, om kemiske stoffer påvirker fostre og børns udvikling. Epidemiologiske studier har i en række tilfælde vist en sammenhæng mellem kemisk udsættelse og effekter på fostre og børn. Sådanne data kan selvfølgelig først fås, når der allerede er sket en skadelig påvirkning af mennesker, og undersøgelser i dyremodeller er derfor den bedst opnåelige måde til at få data, der kan forebygge effekter hos mennesker.

Dyremodeller har en række fordele i forhold til undersøgelser af mennesker. F.eks. udsættes dyrene for en kontrolleret eksponering i modsætning til mennesker, der normalt udsættes for en række kemiske stoffer samtidigt. I dyremodeller kan der også etableres et ensartet opvækstmiljø for afkommet, hvilket har stor betydning f.eks. for påvisning af adfærdseffekter. Undersøgelser af effekter, der først viser sig hos ældre, vil hos mennesker skulle dække et tidsrum fra eksponering til effekt på omkring 70 år, mens tilsvarende undersøgelser i en dyremodel kan foretages på ca. 2 år. Der kan også undersøges en række effektmål i dyremodeller, som normalt ikke undersøges hos mennesker, fordi der kræves invasive indgreb (f.eks. testikelbiopsi).

Anvendelse af data fra dyremodeller til mennesker er baseret på de biologiske ligheder, der er mellem de anvendte dyrearter og mennesker. Der er en række grundlæggende ligheder mellem forsøgsdyr og mennesker med hensyn til f.eks. DNA, proteinsyntese, hormoner, neurotransmittere osv. Derudover afspejler fosterud-

viklingen generelt arternes udvikling og i de tidlige stadier af fosterudvikling er f.eks. rotter og mennesker meget ens. Der er også en række forskelle mellem forsøgsdyr og mennesker, der skal inddrages ved anvendelsen af data fra dyremodeller. Disse forskelle omfatter bl.a. optagelse af kemiske stoffer, følsomhed, spontan forekomst af f.eks. misdannelser og fødselstidspunkt ift. udviklingen.

En metode til at vurdere dyremodellers anvendelighed er sammenligning af effekter i dyreforsøg med data fra mennesker. I USA er foretaget en litteraturgennemgang af 38 kemiske stoffer, der har forårsaget misdannelser hos mennesker, og 165 kemiske stoffer, der ikke har vist effekt hos mennesker (Jakobsen og Meyer 1989). Sammenligninger med data fra dyremodeller viste, at 80% af stofferne, der havde effekt hos mennesker, også havde effekt hos rotter. Blandt de 38 stoffer var der kun et, der ikke havde vist effekt i en af de normalt anvendte dyrearter, dvs. mus, rotter og kaniner. Der blev også foretaget en sammenligning af de doser, der gav effekt. Dette er generelt vanskeligere at bedømme, da doser hos mennesker ofte ikke kendes særligt præcist. Sammenligningerne viste, at mennesket tilsyneladende er mere følsomt end de anvendte dyrearter, når dosis udtrykkes i mg/kg. Lignende sammenligninger er foretaget med hensyn til effekter på hjernens udvikling og adfærd, men med færre stoffer, da der ikke er så mange data fra mennesker. Disse sammenligninger viste en god sammenhæng mellem effekter i dyremodeller og effekter på børn (Francis et al., 1990). Generelt vurderes det, at effekter i dyremodeller peger på en mulighed for effekt på mennesker, og data fra dyremodeller anvendes derfor til risikovurdering for mennesker.

### Konklusioner

Data fra dyreforsøg udført efter OECD Test Guidelines anvendes til risikovurdering af kemiske stoffer, fordi effekter på dyr indikerer, at det undersøgte stof har et iboende potentiale for at inducere skadelige effekter hos mennesker.

---

Af de nuværende OECD Test Guidelines dækker kun to-generationsforsøget alle følsomme perioder af udviklingen.

Effekter hos fostre og nyfødte dyr som misdannelser, fosterdød og vækstretardering undersøges relativt grundigt. Effekter hos unge dyr undersøges inden for områder som reproduktionsfunktion og hjerneudvikling. Potentielt vigtige områder, som f.eks. effekter på immunsystemet, den neuroendokrine akse og lever- og nyrefunktion, undersøges ikke. Effekter, der først viser sig, når dyrene bliver ældre, er ikke genstand for undersøgelse i nogen guidelines.

## Referencer

- Aafjes JH, Vels JM, Schenck E. *Fertility of rats with artificial oligozoospermia*. J Reprod Fertil 1980;58:345-51.
- Barlow SM, Sullivan FM. 6. *Behavioural teratology*. Teratology - trends and applications, Berry CL, Poswillo DE (eds). Springer Verlag, 1975: 103-20.
- Francis EZ, Kimmel CA, Rees DC. *Workshop on the qualitative and quantitative comparability of human and animal developmental neurotoxicity: Summary and implications*. Neurotoxicol Teratol 1990;12:285-92.
- Hass U, Hansen EV, Østergaard G. *Experimental studies in laboratory animals*. In: Hass U et al (eds) Occupational reproductive toxicity - Methods and testing strategy for hazard assessment of workplace chemicals. Nordic Council of Ministers and National Institute of Occupational Health, Denmark 1994.
- Jakobsen BM, Meyer O. *Extrapolation from in vivo/in vitro experiments to human beings*. In: Andreassen PB, Brandt NJ, Cohr K-H, Hansen EV, Hass U, Hauge M, Jakobsen BM, Knudsen I, Lauritsen JG, Melchior JC, Meldgaard L, Meyer O, Olsen JH, Palludan B, Poulsen E (eds). Embryo-foetal damage and chemical substances. Working party report, Copenhagen, Levnedsmiddelstyrelsen, 1989, 1-127. (Translated version of Danish report from 1986).
- Meyer O, Jakobsen BM, Hansen EV. *Identification of embryo-foetal toxicity by means of animal studies*. In Andreassen PB, Brandt NJ, Cohr K-H, Hansen EV, Hass U, Hauge M, Jakobsen BM, Knudsen I, Lauritsen JG, Melchior JC, Meldgaard L, Meyer O, Olsen JH, Palludan B, Poulsen E. Embryo-foetal damage and chemical substances. Working party report, Copenhagen, Levnedsmiddelstyrelsen, 1989, 1-127. (Translated version of Danish report from 1986).
- Mylchrest E, Sar M, Catley RC, Foster PMD. *Disruption of androgen-regulated reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide*. Toxicol Appl Pharmacol 1999;156:81-95.
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals. TG 417 One generation reproduction toxicity study; TG 418 Two generation reproduction toxicity study, 1983.
- OECD. *Report on approaches to teratogenicity assessment (draft)*. Room document no 31, 1989.
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals. TG 421 Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test; TG 422 Combined Repeat Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, 1994.
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals. TG 414 Prenatal developmental toxicity study (draft proposal); TG 416 Two-generation reproductive toxicity study (draft proposal); Proposal for a new guideline 426. Developmental neurotoxicity study, 1999.
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals. Proposal for a new guideline 426 Developmental neurotoxicity study, 2003.
- Palmer AK. *Regulatory requirements for reproductive toxicology: theory and practice*. In: Developmental toxicology, Kimmel CA, Buelke-Sam J (eds). New York, Raven Press, 1981:259-88.
- Palmer AK. *A simpler multigeneration study*. International Congress of Pesticide Chemistry 1986 (Abstract).
- USEPA Guideline 83-6 *Developmental neurotoxicity*. Washington DC:US Environmental Protection Agency, 1991.

---

# Effekter af stress i fostertilværelsen

*Af Karin Sørig Hougaard, Arbejdsmiljøinstituttet.*

---

Det har længe været almen viden, at vores arvemasse har betydning for, hvordan et barn "falder ud" - børn ligner f.eks. deres forældre. Idéen om at ikke-genetiske faktorer kan påvirke fostrets udvikling er imidlertid relativt ny. Indtil for få år siden troede man, at fostret var beskyttet mod virkningen af skadelige kemikalier. At alkohol er fosterskadende blev først beskrevet i 1970'erne, og thalidomidskandalen satte fokus på, at de kemiske stoffer, moderen udsættes for eller indtager, kan påvirke udviklingen af det ufødte barn.

De senere år er der kommet fokus på at gravide kvinders "følelsesliv og aktivitetsniveau kan bidrage til at forme deres barns fysik, adfærd og udvikling efter fødslen", som Sontag skrev i 1941. Der tales om "perinatal programmering", dvs. at begivenheder i fostertilstanden er med til at modellere kroppens fysiologi og funktion senere i livet. Sygdomme, der optræder længe efter fødslen, kan grundlægges allerede i fostertilstanden (Welberg og Seckl, 2001). Stress er en af de påvirkninger, der kan "programmere" fostret. Stress er på alles læber i det moderne liv - vi er stressede i familien og stresser på arbejdet. Arbejdsmiljøet indvirker i højere grad negativt på kvinders end mænds mentale helbred og vitalitet, og kvinder er typisk ansat længere nede i hierarkiet end mænd og har mere monotone og fastlåste arbejdsopgaver. Over en fjerdedel af alle danske kvinder i den fødedygtige alder er beskæftiget i de psykosocialt belastede brancher, der blev udpeget i Arbejdsministeriets handlingsprogram i 2005. Det er derfor tankevækkende, at det nuværende videngrundlag er utilstrækkeligt til at vurdere, om gravide har behov for specielle anbefalinger m.h.t. psykosocial belastning i arbejdsmiljøet (Arbejdsministeriet, 1996; Arbejdstilsynet, 2002). Denne artikel<sup>1</sup> beskriver, at udsættelse for stress i fostertilstanden kan have konsekvenser for fosterudviklingen og fysiologisk

funktion, også efter fødslen. Der inddrages resultater fra undersøgelser i mennesker og fra dyreforsøg.

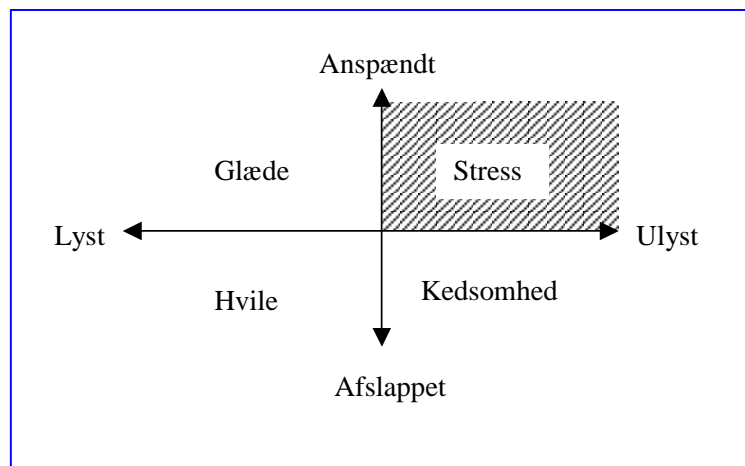
## Hvad er stress?

Vi benytter hyppigt ordet stress - det virker som om vi alle er stressede. De færreste har en særlig præcis opfattelse af, hvad stress er. Stress kan defineres på mange måder, men er i fig. 1 defineret som en individtilstand, der er karakteriseret af ulyst og anspændthed. En række forhold er med til at afgøre, om en påvirkning virker stressende. Disse forhold omfatter f.eks. indflydelse på egen arbejdsituation, forudsigelighed (f.eks. af arbejdsopgaver), social støtte og om ens arbejdsopgaver giver mening.

Stress viser sig på tre måder hos mennesker: 1. Vi oplever, at vi er stressede. Det kan f.eks. vise sig som irritabilitet, nervøsitet og anspændthed. 2. Kroppen reagerer med øget produktionen af stresshormoner, der virker på f.eks. muskler, lever og hjerte. Stresshormonerne medfører, at puls, blodtryk og blodsukker stiger og at blodtilførslen til muskulaturen øges. Kroppen forberedes på den måde til at klare belastning, hvilket er formålstjenstligt ved kortvarige påvirkninger, men kan skade helbredet på langt sigt. 3. Stress kan medføre, at vi ændrer adfærd, f.eks. øger forbruget af cigaretter og alkohol (Kristensen, 2002).

---

<sup>1</sup> Litteraturgrundlaget for nærværende sammenfatning er omfattende. Hvor det har været muligt, er teksten derfor udarbejdet på grundlag af reviews samt to nyere danske afhandlinger med omfattende reference til studier i hhv. mennesker (Obel, 2003) og dyr (Hougaard, 2003).



Figur 1. Model for stress: stress defineres som en individtilstand, der er karakteriseret af ulyst og anspændthed - svarende til det skraverede felt i figuren (modificeret fra Kristensen et al., 2002).

### Hvordan kan stress påvirke det ufødte barn?

Man kan forestille sig, at stress hos en gravid kvinde kan påvirke det ufødte barn via ændringer i moderens fysiologi (stresshormoner) eller på grund af adfærsændringer (fig. 2).

Stressede mennesker producerer flere stresshormoner, så stress ændrer den gravide kvindes hormonelle miljø. Det betyder, at der overføres flere stresshormoner fra moderen til fostret, hvor stresshormoner har indflydelse på udviklingen. Man regner især med, at de glukokortikoide stresshormoner er vigtige i denne sammenhæng, dvs. kortisol hos mennesker og kortikosteron hos gnavnere.

Stresshormoner påvirker også kroppens fysiologi. En alternativ mekanisme er, at stress nedsætter blodtilførslen til moderkagen og det kan have følger for udvekslingen af næringsstoffer mellem moder og foster og dermed for fostrets trivsel. Immunsystemet er også følsomt for stress, og en øget modtagelighed for infektioner kan også have negative følger for fostret.

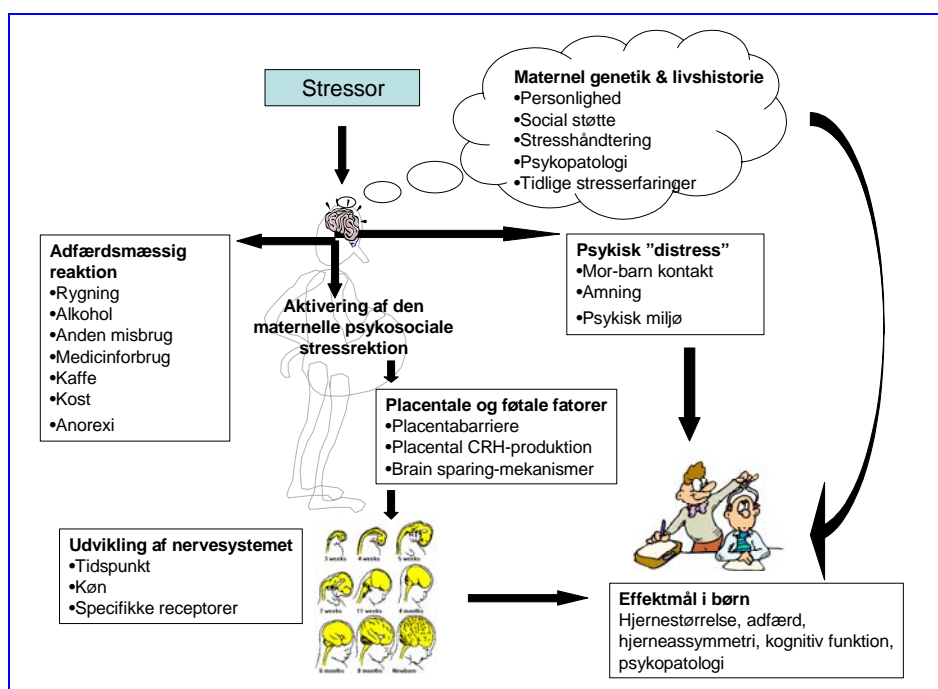
Stress ændrer også vores adfærd. Stress kan øge forbruget af cigaretter og alkohol, og både rygning og alkohol kan påvirke fosterudviklingen negativt (Obel, 2003; Paarlberg et al., 1995).

Artiklen omfatter effekter, der opstår som følge af ændringer i moderens hormoner og fysiologi.

### Effekter af stress i fostertilstanden: epidemiologiske undersøgelser

Resultater fra studier i både mennesker og forsøgsdyr giver belæg for at tro, at stress i graviditeten kan påvirke fosterudviklingen og have betydning efter fødslen. Undersøgelser i mennesker har mest set på effekter i nær tilknytning til graviditetens forløb, dvs. graviditetslængde og fødselsvægt. Et antal undersøgelser har desuden søgt at afklare, om prænatal stress kan påvirke nervesystemets udvikling (f.eks. venstrehåndethed og kønsrelateret adfærd) og øge risikoen for psykiske problemer og sygdomme (skizofreni, depression, adfærdsproblemer i barndommen).

Især tidlige undersøgelser er præget af metode-mæssige problemer. Mange af studierne er små, stress er ofte dårligt defineret og der tages ikke hensyn til andre faktorer, der kan påvirke fosterudvikling og graviditet (f.eks. rygning, alkohol). Mange af undersøgelserne har først registreret moderens sindstilstand under graviditeten efter fødslen. Det øger usikkerheden på vurderingen af moderens stressniveau. Veldefinerede studier giver dog rimelig grund til at



Figur 2. Faktorer med indflydelse på sammenhængen mellem stress under graviditeten og udviklingen af nervesystemet. Epidemiologiske undersøgelser af effekterne af stress i fostertilstanden kompliceres af, at stress hos den gravide kvinde interagerer med andre faktorer. Stress er under indflydelse af genetiske og sociale faktorer, herunder personlighed, evne til at håndtere stress og social støtte. Stress er også kendt for at påvirke adfærd, herunder for at øge brugen af stimulanser (cigaretrygning, alkoholindtag) og ændre kosten, ændringer, der i sig selv kan påvirke fosterudviklingen negativt. Dertil kommer, at den gravide kvindes psykiske tilstand før og efter fødslen kan være svære at adskille, og at det omgivende miljø har stor betydning for udviklingen af barnet i årene fremover. (Modificeret efter Obel, 2003).

antage, at prænatal stress øger risikoen for for tidlig fødsel og kan påvirke fødselsvægten negativt (Lobel, 1994; Paarlberg et al., 1995).

Resultater fra studier af prænatal stress og nervesystemet har været vanskelige at gentage fra studie til studie. Noget tyder dog på, at prænatal stress kan øge risikoen for udvikling af schizofreni (Obel, 2003; Weinstock, 2001). Et par nyere studier har set på, om stress i graviditeten medfører adfærdsproblemer i barndommen. Et engelsk studie undersøgte betydningen af moderens trivsel i graviditeten for barnets adfærd i fireårsalderen. Kvinderne blev spurgt om symptomer på angst og depression i 18. og 32. graviditetsuge, samt 8, 21 og 33 måneder efter fødslen. Forældrene vurderede<sup>ii</sup> barnets

adfærd ved hjælp af et spørgeskema om barnets styrker og vanskeligheder (f.eks. koncentrationsevne og aktivitetsniveau) fra knap 7500 børn (ca. 57% af de graviditeter, der oprindeligt indgik i undersøgelsen). Børn af kvinder med angstsymptomer i graviditetens 32. uge havde større risiko for at udvise adfærdsproblemer. Sammenhængen var stærkest mellem angst i 32. graviditetsuge og problemer med opmærksomhed og hyperaktivitet hos drenge (O'Connor et al., 2002). Et nyt dansk studie observerer en lignende sammenhæng (Obel, 2003). En del dyreforsøg viser ligeledes, at prænatal stress kan medføre ændret adfærd i afkommet (se afsnittet om angstadfærd).

<sup>ii</sup> Dette er et af de største metodologiske problemer ved undersøgelsen.



---

## Effekter af stress i fostertilstanden: dyrestudier

Det er kun data fra humane studier, der kan give det endegyldige svar på betydningen af prænatal stress for fostre og børns udvikling. Der var imidlertid ikke noget endegyldigt svar at hente om betydningen af prænatal stress i epidemiologiske studier. Data fra mennesker kan selvfølgelig først fås, når der allerede er sket en skadelig påvirkning af mennesker. Det er derfor oplagt at benytte resultater fra dyreforsøg til at belyse problemstillingen.

I dyrestudier kan miljømæssige forhold kontrolleres, og der kan etableres et ensartet opvækstmiljø for afkommet. Derfor er dyreforsøg velegnede til at undersøge, om stress rent faktisk er i stand til at påvirke fosterudviklingen. Der kan også undersøges nogle effektmål i dyremodeller, som man ikke kan forsvare at undersøge hos børn, f.eks. tests, der kræver blodprøver. Anvendelse af data fra dyremodeller til mennesker er baseret på de mange biologiske ligheder mellem de anvendte dyrearter og mennesker. Det gælder f.eks. arvemasse, hormoner og transmitterstoffer i hjernen, og i de tidlige stadier af fosterudvikling er f.eks. rotter og mennesker meget ens. Der er også en række forskelle mellem forsøgsdyr og mennesker, der kræver overvejelse ved anvendelsen af data fra dyremodeller. De fleste dyreforsøg af prænatal stress er udført i rotter, og bl.a. med hensyn til moderkagens funktion og nervesystemets udvikling er der forskel på mennesker og rotter. Rottens nervesystem er mindre udviklet end menneskets ved fødslen, idet rottens nervesystem ved fødslen svarer til menneskefostrets nervesystem i graviditetens 2. trimester (se også artiklen om dyremodeller af Hass og Hougaard). En anden forskel er typen af stress. Stressfaktorer, der indgår i epidemiologiske undersøgelser, er faktorer, der optræder i menneskers liv, f.eks. livsbegivenheder (f.eks. dødsfald i nær familie, skilsmisse, partners utroskab). Det indgår imidlertid sjældent i analysen om de pågældende begivenheder rent faktisk virkede stressende på den gravide kvinde (Lobel, 1994; Obel, 2003). Psykologisk stress er svær at eftergøre i dyreforsøg, hvor

der traditionelt er anvendt kortvarige, akutte stressfaktorer (f.eks. fastspænding og elektrisk stød). Det er et spørgsmål, om data fra dyreforsøg ville kunne overføres lettere til mennesker, hvis man anvendte mere kroniske stressorer end tilfældet er nu (fig. 3, Hougaard, 2003). Undersøgelser i forsøgsdyr dækker flere funktionelle områder end epidemiologiske studier, og dyreforsøg kan hjælpe til at udpege væsentlige effektområder, der kan undersøges i epidemiologiske undersøgelser og belyse mekanismerne bag effekterne.

Også i forsøgsdyr er prænatal stress bedst undersøgt for effekter på fødselsvægt og på nervesystemet. I de følgende afsnit er hovedvægten lagt på effekten af prænatal stress på fødselsvægt, stressreaktion, reaktionen på en pludselig høj lydimpuls, indlæring og hukommelse samt immunsystemet.

### Fødselsvægt

Også i dyreforsøg øger stress i drægtighedsperioden risikoen for nedsat fødselsvægt. Oplysninger om moderens vægtforøgelse under graviditeten og afkomets fødselsvægt opgives desværre sjældent i forsøg med prænatal stress<sup>iii</sup>. Det er derfor vanskeligt at vurdere sammenhængen mellem styrken af stress og effekt på fødselsvægt, til trods for en omfattende litteratur om prænatal stress. Fødselsvægten er dog hyppigere nedsat efter fastspænding af meget lang varighed (9 timer) eller udsættelse for fastspænding tre gange daglig end ved mildere stresspåvirkninger, f.eks. kortvarig fastspænding en gang daglig (kilder fremgår af afsnit 3.4.2 i Hougaard, 2003).

---

<sup>iii</sup> Dette står i modsætning til den toksikologiske tradition (undersøgelser af udsættelse for kemiske stoffer i fostertilstanden), hvor det er standard at registrere fødselsvægt og maternal vægtstigning til vurdering af, hvor kraftigt en eksponering har påvirket den drægtige hun.

Kronisk Mild Stress	Man	Tirs	Ons	Tors	Fre	Lør	Søn
Musebur	—						
Fjernelse af mad og vand		—					
Tom vandflaske		.					
Foderpiller i strøelse		—					
Fugtig strøelse			—				
Crowding*				—			
Alene i bur					—		
Tippet bur (45°)						—	
Trådbur							—

Figur 3. Eksempel på Kronisk Mild Stress-protokol. Kronisk mild stress-modellen bygger på variation og uforudsigelighed. Stressor, tidspunkt og varighed varierer fra dag til dag, hvorfor der kan anvendes relativt milde stresspåvirkninger. Modellen imiterer i højere grad humane stresspåvirkninger (f.eks. "daily hassles") end traditionelle dyremodeller for stress. De traditionelle stressmodeller anvender gentagen udsættelse for én bestemt påvirkning (f.eks. fastspænding eller elektrisk stød). Dyrene udsættes for det samme hver dag, men rotter vænner sig hurtigt til milde stressorer. Stresspåvirkningen går derfor tabt med mindre intensitet og varighed af stressorerne øges. Derfor dominerer den akutte snarere end den kroniske komponent i de fleste traditionelle stressmodeller. En så høj frekvens af akut stress findes sjældent i almindelige menneskers liv (Hougaard, 2003). Forklaring til figuren: horisontale bjælker indikerer varigheden af hver eksponering samt det tidspunkt på døgnet, hvor den pågældende stressor benyttes. \* 8 hunner til standardbur.

### Den hormonelle stressreaktion

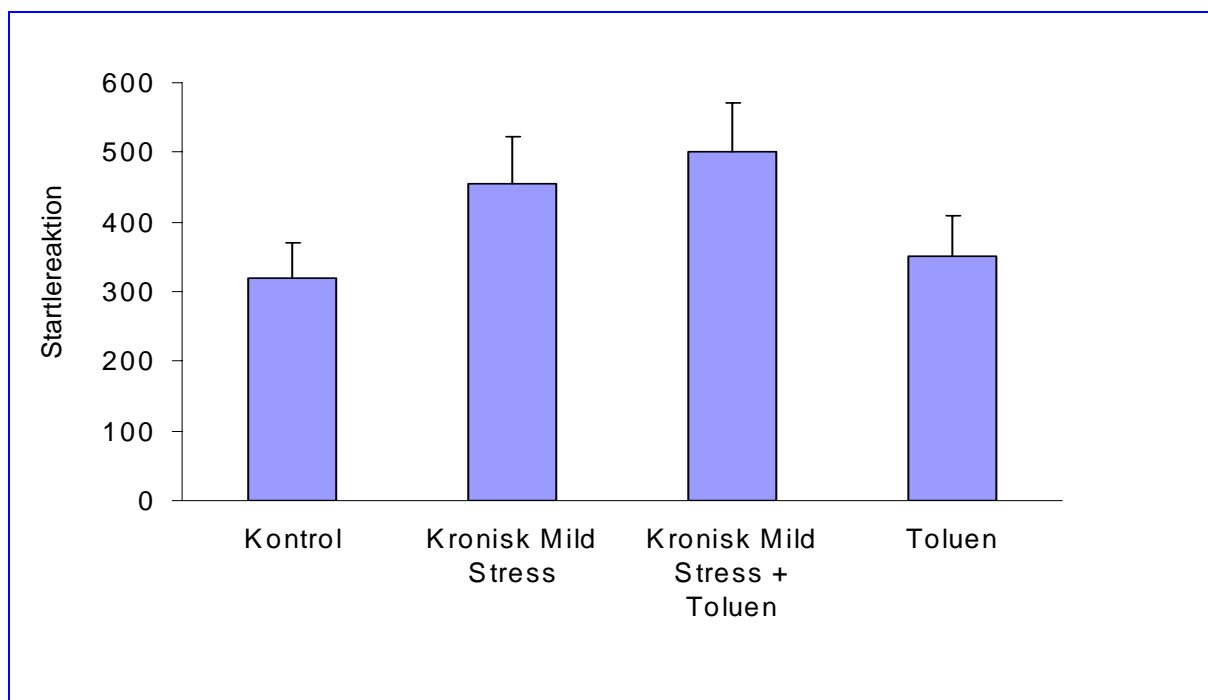
Det mest konsistente fund i prænatale stresset afkom er en forøgelse af den hormonelle stressreaktion. I testsituationen tages først en blodprøve fra dyret under normale forhold ("basal"). Så opsamles blod efter præsentation af en akut stressor ("stress"), der medfører en kraftig forøgelse af kortikosteronniveauet. Endnu en blodprøve tages efter f.eks. en time tilbage i eget bur ("nedregulering"). Under normale forhold er kortikosteronreaktionen klinget af på tidspunktet for nedregulering, dvs. hormonniveauet er nået tilbage på basalniveauet. Prænatale stressede dyr udviser typisk et forhøjet stressniveau af kortikosteron eller niveauet forbliver højt sammenlignet med kontroldyr på nedreguleringstidspunktet. Kun få undersøgelser observerer forhøjet basalniveau af kortikosteron hos dyr, der har været udsat for maternel stress i fostertilstanden (Hougaard, 2003; Welberg og Seckl, 2001). Prænatale stressede dyr opfører sig altså som

kontroldyr under "normale" omstændigheder, mens den prænatale påvirkning bliver observerbar, når dyret er under belastning (set som effekt på stress- eller nedreguleringsniveau).

### Den akustiske startlereaktion

Både mennesker og dyr, der udsættes for en akut, pludselig sansepåvirkning, f.eks. en høj lyd, bliver forskrækkede og reagerer med en helt karakteristisk sekvens af muskelsammentrækninger. Denne "startlereaktion"<sup>iv</sup> kan forholdsvist let undersøges. Rotter placeres typisk på en platform, der er forbundet til en måler, der så registrerer størrelsen af reaktionen efter en kraftig lydimpuls (Grillon, 2002).

<sup>iv</sup> Startle betyder at overraske eller forskrække på engelsk.



Figur 4. Prænatal stress forøger den basale startlerekaktion. Resultater fra forsøg, der undersøgte om samtidig udsættelse i fostertilstanden for et organisk opløsningsmiddel (toluén) og maternel stress (Kronisk Mild Stress) forøgede skaderne på afkommets nervesystem. Forsøget inkluderede fire grupper med forskellige eksponeringer i fostertilstanden: 1. Kontrolgruppe. 2. En gruppe, der kun var udsat for Kronisk Mild Stress (jf. fig. 3). En kombineret gruppe, der var udsat for både Kronisk Mild Stress og toluén, samt 4. En gruppe, der kun var udsat for toluén. Eksponeringen foregik på drægtighedsdag 9-21 for Kronisk Mild Stress, og drægtighedsdag 7-20 for toluén (1500 ppm, 6 timer/dag). Afkommet var et halvt år gamle på tidspunktet for startlesten. Startlerekationen er beregnet som den gennemsnitlige reaktion ("hop") over de første 100 millisekunder efter at dyret er blevet præsenteret for en kortvarig lydimpuls på 120 dB(A). Søjlerne repræsenterer et gennemsnit af 10-14 dyr pr. gruppe. Data er analyseret med en tovejs ANOVA (Kronisk Mild Stress \*- Toluén), hvor dyr udsat prænalt for Kronisk Mild Stress reagerede statistisk signifikant kraftigere på startleimpulsen (Kronisk Mild Stress:  $P < 0,05$ ). Samme mønster blev observeret i 3 efterfølgende startletests med de samme dyr. (Hougaard, 2003; Hougaard et al., 2004)

Vi har i flere forsøg registreret forøget akustisk startlerekaktion i afkom af rotter, som var udsat for Kronisk Mild Stress (fig. 3) i drægtighedsperioden (samarbejdsprojekt mellem Arbejds miljøinstituttet og Institut for Biologisk Psykiatri, Sct. Hans Hospital) (Hougaard, 2003; Hougaard et al., 2004; upublicerede data). Startlerekationen sætter ind hurtigt efter den udløsende lydimpuls starter - de første tegn viser sig ca. 14 millisekunder efter starten af lydimpulsen. Dette korte tidsrum fra impuls til reaktion indikerer, at en simpel refleks er involveret. Den neurale reaktionsvej i rotter be-

står da også af blot tre synapser (Grillon, 2002). Resultaterne fra vores forsøg indikerer derfor, at prænatal stress kan "programmere" helt basale funktioner i nervesystemet.

---

## Angstadfærd ("anxiety")

Prænatal stress associeres generelt med øget angstadfærd i uvante situationer, primært baseret på fund i to forskellige tests: open field-testen<sup>v</sup> og elevated plus-maze<sup>vi</sup>. Angstadfærd er et af de effektområder, som er mest undersøgt for effekter af prænatal stress. Undersøgelserne har stor relevans, fordi der i epidemiologiske undersøgelser er fundet association mellem stress i graviditeten og opmærksomheds-/hyperaktivitetsproblemer.

En del studier observerer således adfærd, der fortolkes som øget angst i forbindelse med et nyt miljø i prænalt stressede dyr: nedsat aktivitet og øget defækation hos prænalt stressede dyr i open field-testen. Der er imidlertid også studier, der observerer modsat rettet eller uændret aktivitet i prænalt stressede dyr, hvortil kommer, at det ikke altid ligger lige for at fortolke resultaterne fra især open field-testen (Weinstock et al., 1988). Resultaterne fra plus-mazen udviser mere konsistens, hvor præ-

natal stress generelt er associeret med mindsket ophold på mazens åbne arme, adfærd, der fortolkes som øget angst (Hougaard, 2003; Weinstock et al., 1988; Welberg og Seckl, 2001).

## Kognitiv funktion

Stress i fostertilstanden kan påvirke indlæring og hukommelse senere i livet. Flere forsøg i gnave har benyttet indlærings- og hukommelsestests i Morris vandlabyrinten (fig. 5). Dyr, der har været udsat for stress i fostertilstanden, viser forringet evne til rumlig indlæring og hukommelse i Morris vandlabyrinten i flere forsøg. Det undrer ikke, da optimal præstation i denne test beror på normal funktion af en bestemt del af hjernen, hippocampus. Prænatal stress er ofte associeret med forøget kortikosteronniveau, og netop hippocampus påvirkes negativt af forhøjet niveau af stresshormon både under udviklingen og ved løsning af opgaver senere i livet (Hougaard, 2003; Welberg og Seckl, 2001).

Da vi testede prænalt stressede rotter i Morris vandlabyrinten observerede vi imidlertid, at de løste en bestemt opgave bedre end den ikke-stressede kontrolgruppe (Hougaard, 2003; Hougaard et al., 2004). En lignende observation er gjort i en beslægtet test, den 8-armede labyrint (radial arm maze) (Fujioka et al., 2001). Disse to studier anvendte begge mildere prænatal stress (hhv. Kronisk Mild Stress (fig. 3) og en halv times daglig fastspænding) end de forsøg, der observerede forringet kognitiv funktion (f.eks. 3 x 45 minutters daglig fastspænding) (Hougaard, 2003).

## Immunsystemet

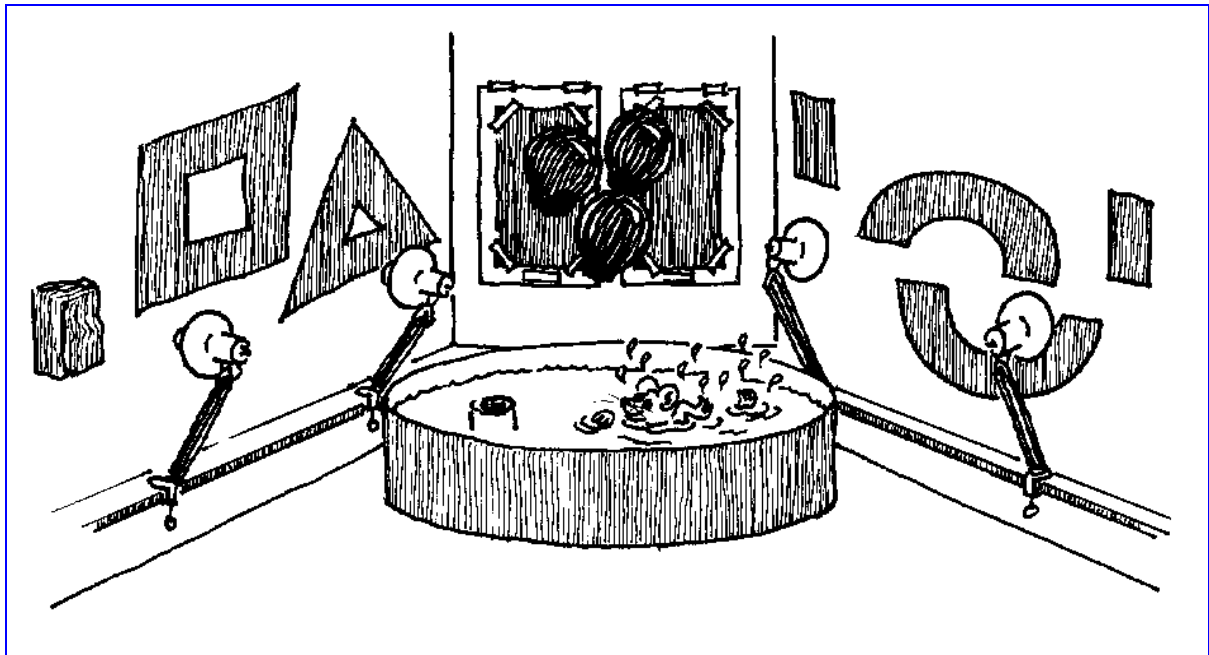
Det kan undre, at betydningen af maternal stress for fostrets udvikling af immunsystemet er lidet berørt i den videnskabelige litteratur.

Stress involverer netop øget produktion af glukokortikoide hormoner, der er nært beslægtede med de steroidhormoner, der benyttes ved behandling af immunlidelser. Vi har i flere forsøg observeret nedsat vægt af thymus i afkom, der

---

<sup>v</sup> Open field testen anvendes til undersøgelser af aktivitet. Testen består af en kasse, hvor grundarealet er tilstrækkelig stort til at rotten kan bevæge sig rundt, men hvor siderne er så høje, at dyret ikke kan kigge ud i rummet. Rotten sættes ved forsøgets begyndelse ned midt i kassen, hvorefter dyrets aktivitet registreres i f.eks. tre minutter. Gængse observationer inkluderer den strækning, dyret bevæger sig, hvor i kassen det opholder sig (her skelnes mellem at opholde sig i det åbne område centralt i kassen og kantsøgende adfærd), samt defækationsraten. Aktiviteten er ofte høj i starten, hvilket reflekterer dyrets reaktion på samt udforskning af de nye omgivelser, men aftager typisk gennem observationsperioden.

<sup>vi</sup> I den forhøjede plus-maze undersøges rottens adfærd i en fire-armed labyrint, der er hævet over gulvhøjde. To modsatrettede arme har høje vægge, mens de to andre arme er åbne (ingen vægge). Generelt vil dyrene søge mod de lukkede arme - ligesom de i open field testen vil søge mod kantnære områder. Plus-mazen kaldes en angsttest, idet angstdæmpende stoffer kan øge den andel af tiden, hvor rotten opholder sig på de åbne arme, mens angstinducerende stoffer reducerer opholdet på de åbne arme.



Figur 5. Morris vandlabyrinth ("Morris water maze") er en test, der anvendes i toksikologien (og neurovidenskab) til vurdering af stoffers påvirkning af rumlig indlæring og hukommelse. Kort beskrevet sættes en rotte i vandet i det cirkulære svømmebassin. Den kan slippe op af vandet ved at finde en platform, der er skjult under vandoverfladen. Dyrene kan i princippet finde platformen ved at svømme tilfældigt rundt, men rotter lærer hurtigt at svømme målrettet hen til platformen, uanset hvor i bassinet de starter. Intet i selve bassinet markerer platformens position. En indlæringsstrategi indebærer, at dyret lærer platformens rumlige placering i forhold til orienteringsmærker udenfor bassinet, dvs. dyret danner et kort over rummet i hukommelsen til at navigere efter ("mapping"-strategien). Læring v.h.a. denne relateres til en struktur i hjernen, der hedder hippocampus. Når dyrene først har lært at finde platformen, husker de positionen længe - derfor er der god mulighed for at benytte Morris vandlabyrinten til undersøgelser af hukommelse (se f.eks. Hougaard et al., 1999). Tegning af Birgit Zachariassen.

havde været udsat for Kronisk Mild Stress i fostertilstanden (Hougaard, 2003; Hougaard et al., 2004), og de få andre publicerede undersøgelser indikerer, at prænatal stress påvirker immunsystemets funktion (f.eks. Kay et al., 1998). Konsekvenserne af en sådan påvirkning for immunsystemets funktion på langt sigt kendes ikke, men visse forhold indikerer, at prænatal stress kan skubbe fostrets immunsystem i retning af øget reaktion på allergener (Nogueira et al., 1999; von Hertzen, 2002).

### Diskussion af resultaterne fra fund i dyrestudier

Prænatalt stressede dyr synes at opføre sig som kontroldyr under "normale" omstændigheder,

mens den prænatale påvirkning bliver observerbar under belastning, jf. undersøgelser af den hormonelle stressreaktion. Resultater fra f.eks. den akustiske starttest underbygger at prænatalt stressede rotter reagerer kraftigere på ydre stimuli. Den generelle beskrivelse af en prænatalt stresset rotte er da også et dyr, der udviser "nedsat evne til håndtering af stress (f.eks. opmærksomhedsforstyrrelse og angst) samt dysregulering af den hormonelle stressreaktion" (Weinstock, 1997). På Arbejdsmiljøinstituttet er vi i gang med at undersøge, om udsættelse for stress i fostertilstanden øger risikoen for at udvikle høreskade ved udsættelse for høj støj.

Det er vigtigt at nævne, at prænatal stress-fænotypen<sup>vii</sup> er kommet til verden på grundlag af et stort antal dyreforsøg (>300). Alle effektmål, der er påvirkelige for prænatal stress, er sjældent påvirkede i det samme forsøg (tabel 1). Adfærden kan indikere forøget evne til stresshåndtering i nogle tests, men nedsat evne i andre, og hunner og hanner udviser ofte forskellig følsomhed, eller endog modsatte effekter. Dertil kommer, at der anvendes en mangfoldighed af materielle stressprocedurer (jf. fig. 3) på forskellige tidspunkter af drægtighedsperioden og at testprocedurer varierer fra laboratorium til laboratorium (Hougaard, 2003).

De fleste reviews på området dækker over mange effektområder, hvilket kan være en af årsagerne til, at kvaliteten af de tilgrundliggende artikler sjældent vurderes. To ældre reviews er unikke i forsøget på at vurdere betydningen af styrken af den materielle stresspåvirkning for effekten i afkommet. Forskningen beskæftiger sig primært med de negative virkninger af stress i fostertilstanden, men disse reviews konkluderer, at styrken af den materielle stresspåvirkning har betydning. Kraftig materiel stress fører således til en fænotype som beskrevet ovenfor, mens mildere materiel stress fører til en øget evne til at håndtere stress (Archer og Blackman, 1971; Weinstock

et al., 1988). Et lignende billede tegner sig som beskrevet for kognitiv funktion, idet nogle studier peger i retning af, at mildere materiel stress kan være forbundet med forbedret funktion.

Bemærk dog, at dyr med forbedret præstation i Morris vandlabyrinten var behandlet på samme måde som dyr, der udviste forøget akustisk startlærereaktion (dvs. forringet evne til stresshåndtering) samt nedsat vægt af thymus (tabel 1). Der er altså noget, der tyder på, at forskellige organsystemer påvirkes ved forskellige niveauer af materiel belastning. Måske er det endda sådan, at nogle materielle belastninger medfører negative effekter for ét organsystem, men er gavnlige for andre organsystemer. Det kan måske gavne at inddrage den biologiske betydning af stress i fostertilstanden. I modsætning til miljøfremmede kemikalier, er stresshormoner nødvendige for at vi kan fungere normalt. Fra et biologisk synspunkt kan man forestille sig, at kraftig stress i fostertilstanden påvirker hjernens udvikling i en retning, der forbereder fostret på at vokse op i et stressfuldt miljø (Obel, 2003).

<sup>vii</sup> Fænotype: egenskab, fremtoning. Et individs fænotype er resultatet af spillet mellem genetiske faktorer og miljø.

Tabel 1. Påvirkning af effektmål i hunligt afkom fra to undersøgelser af prænatal Kronisk Mild Stress.

Effektmål	Relativ thymusvægt	Open field	Morris vandlabyrint*	Plus maze**	Hormonel Stressreaktion (kortikosteron)	Akustisk startlærereaktion***
Forsøg 1	↓	-	(↓)	↑	-	Ikke testet
Forsøg 2	↓	-	↑	-	-	↑

Forskellige organsystemer er påvirket i forskellig retning, således at materiel stress både har medført effekter i afkommet, der kan tolkes som negative (øget akustisk startlærereaktion, nedsat thymusvægt) og gavnlige (forbedret indlæring i Morris vandlabyrinten). Dette billede er meget almindeligt i videnskabelige undersøgelser af prænatal stress.

\*: (↓): tvivlsom indikation på at opgaven løstes ringere end kontroller, ↑: opgave løst bedre end kontroller.

\*\* : ↑: forøget præference for åbne områder i.f.h.t. kontroller (~ forbedret stresshåndtering) - men kun i afkom, der ikke tidligere havde været testet i nogen test. Der var ingen forskel i afkom, der tidligere havde været testet i andre tests (Morris vandlabyrinten, open field).

\*\*\*: ↑: forøget startlærereaktion i.f.h.t. kontroller (~ forringet stresshåndtering)

(Hougaard, 2003)

---

## Konklusion

De mange dyrestudier af stress i fostertilstanden efterlader ikke tvivl om, at stress ved livets begyndelse har betydning. Der er væsentlige forskelle mellem mennesker og rotter på f.eks. nervesystemets udvikling, men dyreforsøgene kan hjælpe til at udpege væsentlige effektområder og give bud på mekanismer, der siden kan undersøges i epidemiologiske studier. Forskning om konsekvenserne af at være foster i et stressmiljø ville profitere fra en kritisk gennemgang af eksisterende resultater, med fokus på betydningen af styrken af den materielle stress. Gennemgangen bør inkludere resultater, der taler for den "etablerede" stressfølsomme fænotype, såvel som resultater, der indikerer, at prænatal stress virker i den modsatte retning. Det er væsentligt for forebyggelse og intervention, at vi kan identificere evt. kvinder, hvis fostre risikerer påvirkning. Det kræver viden om, hvilke kvaliteter af den materielle stresspåvirkning, der udgør en risiko for fostret. Vurdering af "hvor meget der skal til" er p.t. et skud i tågen. Grundlaget i de humane studier rækker til "rimeligt belæg" for at prænatal stress har en effekt på fødselsvægt og længden af graviditeten, men selv ikke det metodologisk grundigste review (Lobel 1994<sup>viii</sup>) kommer med et bud på et effektniveau.

Afslutningsvist skal det nævnes, at dyreforsøg viser, at maternel omsorg efter fødslen og opvækst i stimulerende omgivelser kan modvirke evt. negative effekter af stressudsættelse i fostertilstanden.

## Tak

Egne resultater er ikke kommet til verden ved min indsats alene. Tak til de, der har været med på Arbejdsmiljøinstituttet (Gitte Bondgård Kristensen, Maria Hammer, Michael Gulbrandsen, Lotte Drifte, Ulla Tegner, Søren Peter Lund og Åse Marie Hansen), Danmarks Fødevare- og Veterinærforskning (Ulla Hass,

Sofie Pedersen) samt Institut for Biologisk Psykiatri, Sct. Hans Hospital (Maibritt B. Andersen - akustisk startle reaktion, samt gennemlæsning af dette manuskript), samt til Carsten Obel for at låne mig figur 2 og læse manuskriptet igennem.

## Litteratur

Arbejdsministeriet. *Rent arbejdsmiljø år 2005*. Arbejdsministerens handlingsplan. København: Arbejdsministeriet 1996.

Arbejdstilsynet. *At-vejledning A.1.8. Gravides og ammendes arbejdsmiljø*. Februar 2002.

Archer JE, Blackman DE. *Prenatal psychological stress and offspring behavior in rats and mice*. Dev Psychobiol 1971;4:193-248.

Fujioka T, Fujioka A, Tan N, Chowdhury GM, Mouri H, Sakata Y, Nakamura S. *Mild prenatal stress enhances learning performance in the non-adopted rat offspring*. Neuroscience 2001;103:301-7.

Grillon C. *Startle reactivity and anxiety disorders: aversive conditioning, context, and neurobiology*. Biol Psychiatry 2002;52:958-75.

Hougaard KS. *Neurobehavioral teratology of maternal stress in combination with chemical exposure in rats*. Ph.d.-afhandling. København: Arbejdsmiljøinstituttet 2003. Kontakt evt. forfatteren (ksh@ami.dk) med henblik på at erhverve en kopi af afhandlingen.

Hougaard KS, Andersen MB, Hansen ÅM, Hass U, Werge T, Lund SP. *(Submitted) Effects of prenatal exposure to Chronic Mild Stress and toluene in rats, Neurotoxicol Teratol*.

Hougaard KS, Hass U, Lund SP, Simonsen L. *Effects of prenatal exposure to toluene on postnatal development and behavior in rats*. Neurotoxicol Teratol 1999;21:241-50.

Kay G, Tarcic N, Poltyrev T, Weinstock M. *Prenatal stress depresses immune function in rats*. Physiol Behav 1998;63:397-402.

Kristensen TS. *Stress og psykosomatiske sygdomme*. I: Medicinsk sociologi - samfund, sundhed og sygdom (redigeret af Iversen L, Kristensen TS, Holstein B, Due P). København: Munksgaard, 2002:225-53.

---

<sup>viii</sup> Lobels review er ikke helt nyt længere, men kvalitetsvurderer de tilgrundlæggende studier ud fra et antal forud fastlagte kriterier.

---

Lobel M. *Conceptualizations, measurement, and effects of prenatal maternal stress on birth outcomes.* J Behav Med 1994;17:225-72.

Nogueira PJ, Ferreira HHA, Antunes E, Teixeira NA. *Chronic mild prenatal stress exacerbates the allergen-induced airway inflammation in rats.* Med Inflamm 1999;8:119-22.

O'Connor TG, Heron J, Golding J, Beveridge M, Glover V. *Maternal antenatal anxiety and children's behavioural/emotional problems at 4 years. Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children.* Br J Psychiatry 2002;180: 502-8.

Obel C. *Epidemiological studies of stress during pregnancy and fetal brain development. Ph.d.-afhandling.* Århus: Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Århus Universitet, 2003.

Paarlberg KM, Vingerhoets AJ, Passchier J, Dekker GA, Van Geijn HP. *Psychosocial factors and pregnancy outcome: a review with emphasis on methodological issues.* J Psychosom Res 1995;39:563-95.

Sontag LW. *The significance of fetal environmental differences.* Am J Obst Gyn 1941;42:996-1003.

von Hertzen LC. *Maternal stress and T-cell differentiation of the developing immune system: possible implications for the development of asthma and atopy.* J Allergy Clin Immunol 2002;109:923-8.

Weinstock M. *Does prenatal stress impair coping and regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis?* Neurosci Biobehav Rev 1997;21:1-10.

Weinstock M. *Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behaviour of the offspring.* Prog Neurobiol 2001;65:427-51.

Weinstock M, Fride E, Hertzberg R. *Prenatal stress effects on functional development of the offspring.* Prog Brain Res 1988;73:319-31.

Welberg LA, Seckl JR. *Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of the brain.* J Neuroendocrinol 2001;13:113-28.



---

# Biomonitoring af børn

*Af Lisbeth E. Knudsen, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet og Hilde Balling, ISMF.*

---

Vi betragter børn som en særlig udsat og følsom gruppe i forhold til udsættelse for kemikalier m.m. <sup>(1)</sup>. Dels fordi børn er i stadig vækst, men også fordi børn relativt set har et større indtag end voksne. Børns udsættelse er således afhængig af en række alders- og opvækstbestemte forhold.

I risikovurdering indgår oplysninger om påvirkningens farlighed og om eksponeringen. Pålidelige eksponeringsoplysninger kan være meget vanskelige at opnå for såvel børn som voksne. Eksponeringen vil variere fra dag til dag og fra produkt til produkt og der vil også være forskellige mængdeindtag. Det gælder såvel indåndingsluft, væskeindtagelse som fødeindtagelse <sup>(2)</sup>. Hvis vi ønsker at bedømme den eventuelle risiko, man måtte udsætte sig for ved indtagelse af et potentielt farligt stof, er det imidlertid nødvendigt med reproducerbare data.

Biomonitoring giver data om et individs optagelse af fremmedstoffer og er derfor tættere på den aktive dosis, som individet udsættes for. Biomonitoring tager også hensyn til forskelle i optagelse, omdannelse og udskillelse, herunder de individuelle forskelle, der kan være genetisk betingede eller aldersbetingede (børn, voksne og gamle). Biomonitorings placering i forhold til andre trin i rækken fra emission fra kilden til en evt. helbredsskadelig effekt er vist i figur 1. I figuren er også vist de forskellige typer af undersøgelser i biomonitoring: Eksponering, effekt eller følsomhed.

## Hvorfor måle i børn

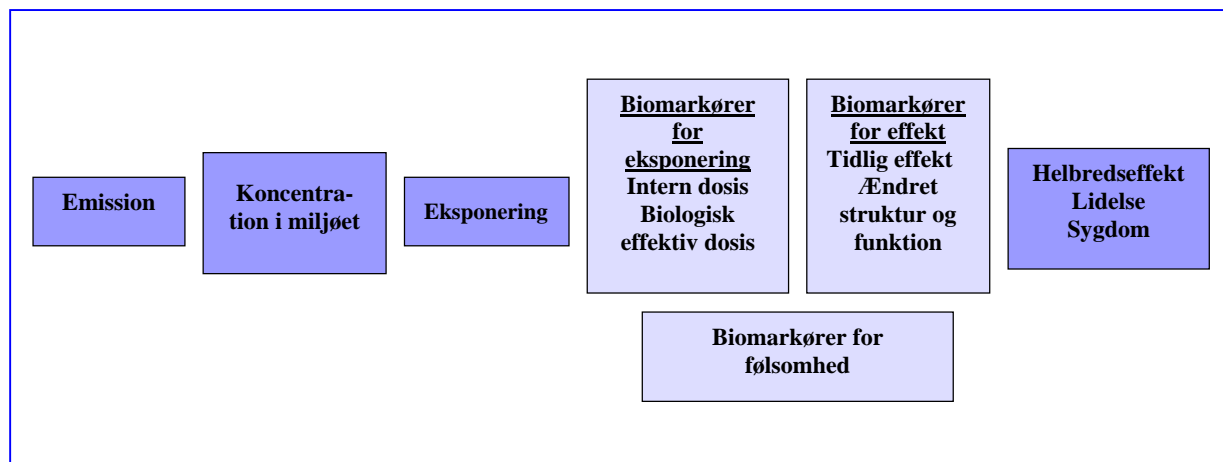
Uden konkrete data på evt. forskelle mellem børn og voksne anvendes en sikkerhedsfaktor 10 i risikovurdering <sup>(3)</sup>. Denne faktor skal tage højde for de forskelle, der er i udviklingsstadiet fra en kønscelle til et voksent menneske. Som

det fremgår af tabel 1 fra rapport fra Det europæiske Miljøagentur og WHO <sup>(4)</sup> er der mange følsomme trin i udviklingen at tage hensyn til.

Målinger i børn ved anvendelse af biomarkører vil give oplysninger om de aktuelle udsættelser, man kan finde i børn, og vil kunne anvendes til mere dataunderbyggede risikovurderinger.

Nedenstående tabel 2 <sup>(5)</sup> viser forskelle i indtag, rapporteret i børn. Der er også store aldersbetingede forskelle i enzymsystemer, som virker ved at nedbryde fremmedstoffer <sup>(6)</sup>. Det er således ikke umiddelbart muligt fra voksendata at ekstrapolere til børn. Aldersbetingede forskelle kan deles op efter aldersvinduer. Det er almindeligt at dele op i fostertilstand, nyfødte, spædbørn (op til 1 år), småbørn (op til 5-8 år), skolebørn (5 år til pubertet), pubertetsbørn og teenagere op til voksenalderen, der regnes fra enten 18 eller 21 år.

De helbredsmæssige konsekvenser af skadelige miljøpåvirkninger hos børn fokuserer på vækstforstyrrelser, nedsat indlæringsevne, større forekomst af autisme, udvikling af astma og allergi samt øget forekomst af kræft, bl.a. leukemi <sup>(7)</sup>. De påvirkninger, vi især har i søgelyset, er fremmedstoffer som tungmetaller (bly fra benzin, kviksølv fra indtag af forurenede fisk, men også amalgamfyldninger), persistente organiske forbindelser (POPer) som PCB, dioxiner, bromerede flammehæmmere, bekæmpelsesmidler og gødningsstoffer, stoffer, der påvirker hormonbalancen samt medicin og partikler fra luftforurening, f.eks. trafikgenerede ultrafine partikler fra dieseldrøjetøjer <sup>(4,8,9)</sup>.



Figur 1. Biomonitoring er et godt værktøj til integrering af miljø- og helbredseffekter, da biomonitoring er tæt på helbredseffekter i kæden fra emission til effekt. (Fra SCALE arbejdsgruppe vedr. biomonitoring af børn).

### Hvorfor måle i væsvæsker

Målinger i væsvæsker giver et mål for den aktuelle samlede udsættelse af barnet, således at forskelle i indtag gennem indånding, hud og mund bliver målt. Enten ved en koncentrationsmåling i blod, målinger af udskillelse i urin og udåndingsluft eller ved mål for aktive interne udsættelser i form af f.eks. DNA addukter, proteinaddukter eller ved tidlige effekter på enzymer og arveanlæg. Begrebet biomarkør anvendes for sådanne målinger. Det er nærmere defineret af bla. WHO og IARC. Figur 1 viser, hvorledes målinger af biomarkører er tættere på sygdomsudfald i kæden fra kilder til skadelig eksposering og evt. sygdomsudfald.

### Erfaringer fra danske undersøgelser

Biomonitoring af børn er ikke nyt i Danmark. Blyforurening fra bl.a. trafik med benzindrevne biler og jordbundsforurening fra nedlagte virksomheder er kendte kilder til børns udsættelse for bly og en række studier af noget ældre dato har målt og overvåget befolkningsgrupperes udsættelse <sup>(10)</sup>. Efter introduktion af blyfri benzin er problemet nu langt mindre. Men nyere undersøgelser har vist blyudsættelser hos børn ved leg i forurenede jord, hvor oprensning af jorden nedsatte belastningen <sup>(11,12)</sup>.

Også optagelse af bly gennem huden ved kontakt med blyhagl har medført forgiftning hos et barn (Troels Lyngbye, personlig meddelelse). Persistente organiske forbindelser i form af dioxiner og PCB'er har også været kendte miljøpåvirkninger i Danmark og i 80'erne gav de første målinger af koncentrationer af disse stoffer i modermælk anledning til forslag om særlig ernæringsrådgivning til gravide - ikke for mange fede fisk osv <sup>(13)</sup>.

Af nyere dato er målinger af udsættelser for forbrændingsprodukter fra trafik. 1-hydroxypyren, som er nedbrydningsprodukt af forbrændingsstoffer, er forhøjet hos børn i byer, sammenlignet med børn med bopæl på landet (Åse Marie Hansen og Ole Raaschou Nielsen, personlig meddelelse). Tobaksrøgsudsættelse giver også forhøjet udskillelse af hydroxypyren tillige med nikotinmetabolitten kotinin. Svenske undersøgelser af børns udsættelse for passiv rygning, målt ved kotinin udskillelse i urin, peger på, at det har en effekt, at forældrene ryger udendørs (nedsat kotininudskillelse i urinen), men vinduerne skal være lukkede og tiltag som at ryge under emhætte i køkken har ringe effekt <sup>(14)</sup>.

Tabel 1. Aldersbetinget udsættelse og potentielle skadelige effekter (fra <sup>(4)</sup>).

Alder	Udviklingsmæssige karakteristika	Potentielt skadelige udsættelser	Mulige skadelige effekter
Prækonception	Manglende opmærksomhed omkring påvirkning af kønsceller	Alle miljøfaktorer	Mulighed for genotoxicitet
Graviditet	Højt energiindtag Permeabel moderkage	Alle miljøfaktorer Ad hoc diagnostiske undersøgelser	Mulighed for: Teratogenicitet (skader på fostrets vækst, udvikling af organer og væv)
Første tre år	Hånd til mund Begynder at kravle og gå Stereotyp kost	Fødevarer (mælk og babymad) Luft (indeklima) Poste-/brøndvand Madrasser/tæpper/gulvbelægning	Mulighed for: Hjerneskadener (synapser) Lungeskade (udvikling af alveoler) Allergisk sensibilisering Skader/ulykker
Førskole- og skolealder	Voksende uafhængighed Legepladsaktiviteter	Fødevarer (mælk, frugt, grøntsager) Luft (ude- og indeluft) Vand	Mulighed for : Hjerneskadener (specifik synapse dannelse, dendrit udvikling) Lungeskade (volumen ekspansion) Skader/ulykker
Teenagere	Pubertet Vækstboom Risikoadfærd Børnearbejde	Fødevarer (alle) Luft (ude- og indeluft) Vand Arbejds miljø	Mulighed for: Hjerneskadener (fortsat synapse dannelse) Lungeskade (volumen ekspansion) Forstyrrelser i pubertetsudvikling Skader/ulykker

### Større europæisk kortlægning af studier med børn

I forbindelse med det europæiske initiativ SCALE til integration af tiltag til forebyggelse af helbredsskader fra miljøfaktorer (Science, Children, Awareness, Legislation, Evaluation) iværksatte en tværfaglig, europæisk arbejdsgruppe en kortlægning af igangværende og afsluttede biomoniteringsprojekter inden for EU de seneste 10 år. I alt 100 projekter blev regi-

streret og arbejdsgruppen skønner, at dette nok ikke er halvdelen af, hvad der pågår <sup>(9)</sup>.

Projekterne fordeler sig på egentlige overvågningsprogrammer, f.eks. det tyske program til overvågning af udsættelser for bl.a. tungmetaller, forbrændingsprodukter, hormonforstyrrende stoffer <sup>(15)</sup> og et mere lokalt program til overvågning af blyudsættelse i det sydøstlige Polen. Det tyske program, der har løbet over en årrække, har bl.a. vist sammenhæng mellem

Tabel 2. Forskelle i indtagelse hos spædbarn og voksne (Fra Armstrong 2002<sup>(5)</sup>).

Medie	Barn	Voksen	Ratio
Indåndingsluft	0,44 m <sup>3</sup> /kg/dag (<1 år)	0,19 m <sup>3</sup> /kg/dag	2.3
Væskeindtag	161 g/kg/dag (<1 år)	33,5 g/kg/dag	4.8
Fødevarer	140 g/kg/dag (<1 år)	23 g/kg/dag	6.1

udskillelse af kviksølv i urin og antal amalgam fyldninger. Måling af phthalater, udskilt i urin fra skolebørn, peger på op til dobbelt så høj indtagelse hos børn, sammenlignet med deres forældre<sup>(16)</sup>. I Polen er også gennemført rutinemæssige overvågningsprogrammer af koncentrationer af bly og cadmium i blodet hos børn. Kampagner, der lærer børnene bedre hygiejne for at undgå udsættelser fra den forurenede jord, synes at have nedsat blyeksponeringen.

I den europæiske kortlægning indgik også en række forskningsprojekter med klare hypoteser til afprøvning vedr. særlige gruppers udsættelser og eventuelle effekter heraf - f.eks. indtagelse af tungmetaller fra f.eks. fisk, persistente organiske stoffer i afgrøder, trafikforurening og udsættelse for forbrændingsprodukter. Flere europæiske studier søger også at finde årsager til den stigende hyppighed af astma hos børn, ofte set sammen med øget forekomst af allergi. Her ses på sammenhænge med såvel miljømæssige eksponeringer som genetiske karakterer. Sammenhænge mellem udsættelser for hormonforstyrrende stoffer og nedsat sædkvalitet inddrager også biomonitering af gravide og undersøgelser af navlesnorsblod for at se effekten af påvirkning i fostertilstanden.

De rapporterede projekter til SCALE omfattede ca. 500.000 børn og projekterne omhandlede tungmetaller (44), astma og allergi (29), dioxiner og PCB (15) og hormonforstyrrende stoffer (5). Projekterne var alle af en vis størrelse med protokol og i langt de fleste tilfælde med rapportering, enten til bevillingsgiver eller til videnskabeligt tidsskrift. Manglen på sammenlignelighed af de mange studier var åben-

bar, hvorfor den europæiske arbejdsgruppe peger på udarbejdelse af fælles protokoller for studier af sammenhæng mellem miljøudsættelser og helbredseffekter.

I CHILDRENGENONETWORK<sup>(17)</sup>, et EU-projekt, som bl.a. samler europæiske data vedrørende børns udsættelse for genotoksiske påvirkninger med henblik på at pulje data og udføre metanalyser, er yderligere over 200 studier af cytogenetiske målinger på børn kortlagt<sup>(18)</sup>. Mange studier kunne ikke inkluderes i en fælles database, når kvalitetskrav som kontrolgruppe og mindst 5 undersøgelsespersoner per gruppe blev inddraget. Databasen for den cytogenetiske test for mikrokerne har allerede vist, at der er en aldersbetinget stigning i antal af mikrokerne hos såvel drenge som piger.

Af nyere data er opbygningen af større kohorter til afprøvning af hypoteser om sammenhænge mellem udsættelser og effekter i børn allerede fra fostertidspunktet meget væsentlige og efterspurgt. Et godt eksempel er den danske kohorte *bedre sundhed mor barn* med i alt 100.000 fødsler inkluderet og biologiske prøver fra en væsentlig del heraf<sup>(19)</sup>.

Mange europæiske lande overvejer tilsvarende kohorter, endda med yderligere oplysninger om forældrenes udsættelser og indhentning af tilladelser til at følge op på personerne i kohorten. Også i USA er en national kohorte under opbygning.

Et andet dansk eksempel er COPSAC-COPENHAGEN PROSPECTIVE STUDY ON ASTHMA IN CHILDHOOD<sup>(20)</sup>, hvor børn af astmamødre følges

Tabel 3. Eksempler på invasive og ikke-invasive prøvetagninger.

Ikke-Invasive		Invasive	
Væv	Indsamling	Væv	Indsamling
Svælgepithel	Skrab af mundhulen med tryk på tunge eller brug af speciel børste	Blod	Venepunktur eller fingerprik
Spyt	Leveres i sterilt glas eller på steril vatpind	Bronkial-, luftrør- eller mavetarm-epithel	Biopsimateriale
Urin- og urinrørs-celler	Adskilles ved centrifugering	Spinalvæske	Spinalpunktur
Næseepithel	Skrab af næsehulen med næsebørste eller vatpind	Fostervand	Fostervandsprøve (mor)
Navlesnorsblod	Udtages umiddelbart efter fødsel	Fedtvæv	Biopsi
Moderkage	Anvendes umiddelbart efter fødsel		
Expireret luft	Luftopsamler		
Hår	Hårafklip eller håraffald		
Fingernegle	Klippes i steril opbevaringsboks		
Mælketænder	Opbevares i steril opbevaringsboks		

med jævnlige helbredsundersøgelser koblet med miljømæssige registreringer af udsættelser for trafikforurening, passiv tobaksrygning og indeklimapåvirkninger. I COPSAC er det muligt at undersøge evt. gen/miljø interaktioner bl.a. i forbindelse med udvikling af astma hos de i alt 400 børn i studiet.

### Forskningsbehov i relation til biomonitering af børn.

Den europæiske arbejdsgruppe under SCALE konkluderede, at integrering af biomoniteringsaktiviteter kræver mere viden, opnået ved såvel forskning som overvågningsprogrammer. Der er mangel på konkret viden om forskelle mellem de anførte aldersgrupper, hvorfor der efterlyses mekanistiske studier af aldersbetingede forskelle i udsættelser, metabolisering, skader

og reparation og følsomhed. Modeller for fælles udnyttelse af data bør opstilles gennem protokol design vedr. undersøgelsesdesign, prøveindsamling og analyse, databehandling og databeskyttelse samt formidling og kommunikation.

Der efterlyses også en europæisk standard for studier med børn. Aktiviteterne kan bygge på allerede igangværende og gennemførte studier (især inden for arbejdsmiljøudsættelser, men f.eks. også det tyske nationale overvågningsprogram). Det foreslås, at der satses på et pilotprojekt med deltagelse af så mange europæiske lande, som ønsker det, for at opnå nyttige erfaringer for et evt. kommende EU-biomoniteringsprogram. Oplæg til et fælles EU pilotprojekt forventes således udarbejdet inden for en kortere tidsramme.

---

## Mindre invasive metoder

Udvikling af mindre invasive metoder til afløsning af blodprøvetagning efterlyses og der arbejdes bl.a. på udvikling af analyser på epitelceller fra næse, svælg, urinrør. Der er ikke validerede alternative metoder i dag. Tabel 3 viser de mindre invasive metoder og de invasive metoder, som kan komme på tale (personlig meddelelse Nina Holland).

## Nye målemetoder

Udvikling af nye målemetoder bl.a. med brug af genekspressionsanalyser er et område, der sættes på og flere pilotprojekter er gang i, bl.a. et feltstudie i Tjekket i CHILDRENGENONETWORK indeholder disse mål. En arbejdsgruppe under IPCS (The International Programme on Chemical Safety) arbejder tillige med at give retningslinier for anvendelse af de nye metoder i biomonitering.

## Etiske forhold

Forskning for og med børn er nødvendig for at opnå viden og der er tiltagende interesse herfor (kliniske afprøvninger, sammenhæng mellem udsættelser for miljøfaktorer og helbredsskader, regulering). Men børn er ikke små voksne, så der er særlige hensyn at tage ved tilrettelæggelse af undersøgelser.

Undersøgelser på børn bør kun igangsættes, fordi viden ikke kan opnås ved ekstrapolation fra studier på voksne eller forsøgsdyr. Der er behov for mere pædiatrisk ekspertise i miljøforskning og i de etiske komiteer for at sikre, at børns tarv bliver tilgodeset.

Information til børn, forældre og andre, som involveres, bør standardiseres, således at der gives oplysninger om formål, risiko, tilgængelighed af resultater, databeskyttelse og evt. nytte/skade for deltageren. Informationen skal være alders adekvat, idet hver aldersgruppe har sine behov og forældrenes rolle i beslutningsprocessen og i selve undersøgelsen skal være beskrevet.

Graden af forældrenes medvirken i beslutningsprocessen hos skolebørn og opefter er afhængig af bl.a. social status og kultur. Det informerede samtykke afhænger også af barnets alder, idet det bliver mere og mere almindeligt, at barnet kan give sit besyv med (og sige nej), men det afhænger også af social status og af lokal kultur.

I det tyske pilotstudie med børn var der således en lavere deltagelse hos teenagere, sammenlignet med andre alderstrin. Der var også lavere deltagelse hos børn af enlige mødre og børn af mødre med lille grad af uddannelse. Incitamenter for deltagelse i undersøgelser kan være altruisme, men også mere pekuniære argumenter fremføres af f.eks. teenagere. Tiden, der bruges til deltagelse, kunne være brugt til at tjene penge!

Resultater skal kommunikeres (ikke nødvendigvis individuelt) og yderligere brug af data og prøver skal være klarlagt før start på studie. Der er forskel på deltagelse i et studie af miljøfaktorer eventuelle skadelige effekter og deltagelse i en klinisk afprøvning af et medikament, hvor graden af barnets autonomi i forhold til forældres/værges ret til bestemmelse kan variere.

På en nylig konference i København, afholdt af CHILDRENGENONETWORK, blev der lagt op til grundigere diskussion af de særlige etiske forhold omkring miljø og folkesundhedsvidenskabelige studier sammenlignet med kliniske studier.

## Konklusion

I Danmark har der førhen været nogen aktivitet på området med biomonitering af børns udsættelse for bly og for luftforurening, men ikke i samme omfang som i andre europæiske lande som Tyskland og Frankrig. Med SCALEs initiativer inden for biomonitering af børn lægges der op til mere regelmæssige målinger på europæisk plan for bl.a. bly, men også f.eks. for hormonforstyrrende stoffer. Derudover er der et stort behov for mere viden om børns eksponering og følsomhed i de forskellige aldersvinder fra før konception til voksenalder.

---

## Referencer

1. Danish Environmental Protection Agency: *Children and the unborn child. Exposure and susceptibility to chemical substances – an evaluation*. Environmental Project No 589, 2001.
2. *Exposure Factors Handbook EPA/600/P-95/002Fa* August 1997.  
<http://epa.gov/nceawww1/pdfs/efh/front.pdf>
3. Committee on Developmental Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology, Commission on Life Sciences. National Research Council: *Scientific frontiers in Developmental Toxicology and Risk assessment*. National Academy Press Washington DC 2000.
4. EEA Det europæiske miljøagentur / WHO 2002. *Children's Health and Environment: A review of evidence*. Tamburlini G, Ehrenstein Ov, Bertolini R (eds).
5. Armstrong TW, Zaleski RT, Konkel WJ, Parkerton TJ. *A tiered approach to assessing children's exposure: a review of methods and data*. *Toxicol Lett* 2002;127:111-9.
6. Wild CP, Kleinjans J. *Children and increased susceptibility to environmental carcinogens: evidence or empathy?* *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003;12:1389-94.
7. Landrigan PJ, Kimmel CA, Correa A, Eskenazi B. *Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment*. *Env Health Perspect* 2004;112:257-65.
8. *Baseline Report 'Biomonitoring of children' in the framework of the European Environment and Health Strategy COM(2003) 338 final*.  
[http://www.brussels-conference.org/Download/baseline\\_report/BR\\_Biomonitoring\\_final.pdf](http://www.brussels-conference.org/Download/baseline_report/BR_Biomonitoring_final.pdf)
9. *Report on an action plan and options for action for 'Biomonitoring of Children' in the framework of the European Environment and Health Strategy COM(2003) 338 final*.  
[http://europa.eu.int/comm/environment/health/finalreports\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/environment/health/finalreports_en.htm)
10. Lyngbye T, Hansen ON, Grandjean P. *Predictors of tooth-lead level with special reference to traffic. A study of lead exposure in children*. *Occup Environ Health* 1990;62:407-22.
11. Nielsen JB, Kristiansen J. *Undersøgelse af effekten af intervention på børns eksponering for bly*. Miljøprojekt nr. 845: Teknologiu udviklingsprogrammet for jord- og grundvandsforurening. Miljøstyrelsen, 2003, 33pp.
12. Nielsen JB, Elverdam B. *Undersøgelse af børnefamiliers viden, holdning og adfærd ved brug af lettere forurenede grunde*. Miljøprojekt nr 846: Teknologiu udviklingsprogrammet for jord- og grundvandsforurening. Miljøstyrelsen, 2003, 51pp.
13. Jensen AA, Slorach SA. *Chemical contaminants in Human Milk*. CPC Press Inc 1991.
14. Johansson AK, Hermansson G, Ludvigsson J. *How should parents protect their children from environmental tobacco-smoke exposure in the home*. *Pediatrics* 2004;113:291-5.
15. Schulz C, Becker K, Seiwert M. *The Child Environment Survey*. *Gesundheitswesen* 2002; 64 Suppl 1:S69-S79.
16. Koch HM, Drexler H, Angerer J. *Internal exposure of nursery-school children and their parents and teachers to di (2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP)*. *Int J Hyg Environ Health* 2004;207:15-22.
17. CHILDRENGENONETWORK  
<http://www.pubhealth.ku.dk/cgn>
18. Neri M, Fucic A, Knudsen LE, Lando C, Merlo F, Bonassi S. *Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review*. *Mutat Res* 2003;544:243-54.
19. *Bedre Sundhed Mor Barn*  
[www.bsmb.dk](http://www.bsmb.dk)
20. *Copenhagen Studies on Asthma in Childhood*  
[www.copsac.dk](http://www.copsac.dk)

---

# Børn og allergi.

## Stiger forekomsten af allergi og hvorfor?

*Af Arne Høst og Anne Estmann Christensen, Børneafdeling H, Odense Universitetshospital.*

---

I de industrialiserede vestlige lande er der i de seneste 2-3 årtier rapporteret en stigende forekomst af allergiske sygdomme. I denne oversigtsartikel vil vi give en oversigt over forekomst af allergiske sygdomme i barnealderen og belyse mulige årsager til den rapporterede stigning i forekomsten af allergiske sygdomme.

### Definition af allergi og allergisk sygdom

Blandt lægfolk opfattes overfølsomhed generelt som en form for allergi, hvor et individ reagerer meget kraftigt ved eksposition for almindeligt forekommende stoffer ”i normal mængde”. Dette har givet anledning til, at mange børn opfattes som overfølsomme/allergiske, når de frembyder helt normale reaktioner på f.eks. indtagelse af u hensigtsmæssige mængder af bestemte fødevarer (eksempelvis diarré ved indtagelse af store mængder klidholdig kost / store mængder frugt). Også blandt fagfolk har der været divergerende opfattelser af definitionen af allergi, og der rapporteres ofte om allergiske symptomer anvendt i meget bred forstand, ofte dårligt afgrænsede og definerede. Således rapporteres der i spørgeskemaundersøgelser ofte en meget høj forekomst af allergiske sygdomme/symptomer <sup>(1)</sup>. Dette har foranlediget udarbejdelsen af en konsensusrapport om definitionen af allergi <sup>(1)</sup>, hvor allergi defineres som en overfølsomhed, der er forårsaget af immunologiske mekanismer, hvorimod betegnelsen ikke-allergisk overfølsomhed anvendes, når der ikke kan påvises nogen til grundliggende immunologisk reaktion. Hos de fleste allergikere skyldes den allergiske reaktion en IgE-medieret reaktion, og der tales så om IgE-medieret allergi. Hos andre patienter med ikke IgE-medieret allergi kan andre mekanismer være ansvarlige for reaktionerne, f.eks.

immunkompleks-medierede reaktioner (type III allergi) eller celle-medierede reaktioner (type IV). Ved IgE-medierede reaktioner ses der et typisk bifasisk respons efter allergeneksposition med straksreaktioner inden for 20 minutter efterfulgt af en senreaktion efter 3-6 timer. Sidstnævnte reaktion er forbundet med vedvarende allergisk inflammation, som medfører strukturelle og funktionelle forandringer og ofte kroniske symptomer <sup>(1)</sup>.

Da ingen af de mulige allergiske manifestationer er patognomoniske<sup>1</sup>, er der specielt i barnealderen ofte vanskeligheder med at afgrænse allergiske sygdomme, hvis der ikke er foretaget en grundig allergologisk udredning, f.eks. ved eksemtilstande og ved luftvejssymptomer med pibende og hvæsende vejrtrækning. Således er den hyppigste årsag til hvæsende vejrtrækning i den tidlige barnealder øvre luftvejsinfektioner, både hos allergiske og ikke-allergiske individer (hyppigst), ligesom rhinitis (betændelse i næseslimhinden) ligeledes hyppigst forårsages af infektioner og ikke allergi.

I tabel 1 er angivet forekomsten af muligt allergiske sygdomme i barnealderen, og der er samtidig angivet forekomsten af IgE sensibilisering. De anførte prævalenser stammer fra prospektive kohorte studier, hvor der er foretaget vurdering af sensibilisering enten ved bestemmelse af specifikt IgE i serum ved en valideret IgE-test eller ved udførelse af priktest ifølge anerkendte guidelines <sup>(2)</sup>.

---

<sup>1</sup> Patognomonisk symptom: symptom, der er så karakteristisk for en sygdom, at den kan erkendes alene ved dette.



Tabel 1. Prævalens og sensibilisering ved allergiske sygdomme hos børn.

<i>Diagnose</i>	<i>Alder</i>	<i>Prævalens*</i>	<i>IgE*** - sensibilisering</i>
<i>Fødevareallergi</i>	<i>Tidlig barndom</i>	7-8%	40-60%
	<i>Skolealder</i>	1-2%	60-70%
<i>Atopisk dermatitis (børneeksem)</i>	<i>Barndom</i>	15-20%	33-40%
<i>Recidiverende astmatisk bronchitis/astma</i>	<i>Tidlig barndom</i>	21-34%	30-60%
	<i>Skolealder</i>	7-10%	70-90%
<i>Allergisk rhinitis og conjunctivitis***</i>	<i>Barndom</i>	10-15%	60-80%

\* Prævalens: Den del af børnene, der på et givet tidspunkt har lidelsen.

\*\* IgE-sensibilisering bestemt ved positiv priktest (gennemsnits kvadel-diameter  $\geq 3$  mm større end den negative kontrol) eller specifikt IgE  $\geq$  klasse 2 (ækvivalent med 0,70 kU/l ved bestemmelse med Pharmacia CAP eller ALK- Centauer) imod et eller flere relevante allergener. Den varierende forekomst af IgE-sensibilisering afspejler forskelle med hensyn til selektion af patienter og metodologi.

\*\*\* Allergisk rhinitis og conjunctivitis: allergisk betinget betændelse i henholdsvis næseslimhinde og øjets bindehinde.

## Er der en stigning i forekomsten af astma og allergi?

Baseret på standardiserede spørgeskemaundersøgelser, udført i forskellige centre dækkende det meste af kloden, er der fundet udtalte variationer i forekomsten af astmasymptomer<sup>(3)</sup> (de såkaldte ISAAC-studier), som kan afspejle enten en naturlig geografisk variation eller en forskellig opfattelse af astmabegrebet.

På baggrund af rapporterede høje forekomster af "allergiske sygdomme" og astma har der været en generel opfattelse af en voldsom stigning i forekomsten af disse lidelser. Imidlertid viser tværsnitsundersøgelser, foretaget med samme metodologi og på samme lokalitet, at der nok er tale om en mere begrænset stigning i forekomsten af astma og allergi<sup>(4-6)</sup>. I den tidlige barnealder er det f.eks. ofte vanskeligt at foretage objektivisering af astmadiagnosen ved lungefunktionsmåling, hvorfor den kliniske diagnose astma oftest er baseret på sygehistorien kombineret med fund ved almindelig klinisk undersøgelse.

I de undersøgelser, hvor det har været muligt at kombinere sygehistorie og klinisk undersøgelse med objektive mål for f.eks. lungefunktion og påvisning af sensibilisering er den fundne stigning i forekomsten af allergisk sygdom oftest beskeden<sup>(4-6)</sup>. En medvirkende årsag til en stigning i forælderreporteret astma og allergi kan formentlig forklares af øget opmærksomhed (awareness) i en population. Ved en kritisk gennemgang af foreliggende undersøgelser synes der at være en stigning i forekomsten af astmatisk bronchitis/astma, atopisk dermatitis og rhinoconjunctivitis på baggrund af evidensbaseret viden, mens en stigning i forekomsten af fødevareallergi er mere usikker<sup>(7)</sup>.

## Risikofaktorer

Allergiske sygdomme er komplekse og multifaktorielle. Som for en lang række andre sygdomsmanifestationer skyldes de allergiske også et samspil mellem genetiske og miljømæssige faktorer. I nogle studier tilskrives udvikling af allergisk sygdom helt op til 50-70% genetiske forhold. Selvom det er veldokumen-

---

Tabel 2. Vigtige faktorer, der influerer på resultater i studier om udvikling og forebyggelse af allergi.

---

*Design: prospektivt, retrospektivt eller tværsnitsstudie*

Randomisering (tilfældig fordeling af projektdeltagere i grupper)

Uselekerede versus selekerede "høj-risiko" børn

Alder

Varighed af behandling/intervention

Blindet evaluering

Diagnostiske kriterier

Kontrol for confounding

Compliance og drop-out (compliance: villighed til fortsat at følge aftalt behandling)

Tilstrækkelig lang follow-up periode

Materialestørrelse/adækvat statistik

---

teret, at allergisk disposition er forbundet med udvikling af allergisk sygdom, er det også vist i adskillige undersøgelser, at mange børn, som udvikler allergiske sygdomme, kommer fra familier uden allergisk disposition<sup>(8)</sup>. Da det er usandsynligt, at ændring i genetiske faktorer over kort tid kan være årsag til en stigning i forekomsten af allergisk sygdom, har der været fokuseret på muligheden af, at ændring i miljøfaktorer kunne ligge til grund for den rapporterede stigning i allergi.

Da den kumulerede forekomst af de allergiske sygdomme i barnealderen er helt op til 25-30%<sup>(2, 9)</sup>, er der en naturlig stor interesse for at påvise risikofaktorer med henblik på evt. forebyggelse.

### Metodologiske faktorer

Når man vurderer mulige risikofaktorer for udvikling af allergisk sygdom og den mulige effekt af forebyggelse er det vigtigt at være opmærksom på de faktorer og confoundere, som er anført i tabel 2. På grund af recall bias og selektionsbias bør retrospektive studier ikke anvendes til at evaluere risikofaktorer. Ligeledes er tværsnitsstudier ikke velegnede til at evaluere årsagsvirkningssammenhænge mellem f.eks. eksposition for allergener/adjuverende faktorer og udvikling af allergisk sygdom. Generelt skal det understreges, at prospektive ikke-interventionsstudier kan anvendes til at

generere hypoteser vedr. sammenhængen mellem årsag og virkning, når det drejer sig om udvikling af allergisk sygdom<sup>(7, 10)</sup>. Imidlertid må man gøre sig klart, at konfirmering/bekræftelse af en mulig årsagsvirkningssammenhæng kræver påvisning af den tilgrundliggende årsagsmekanisme og effekt af elimination/forebyggelse af den mistænkte årsagsfaktor og ydermere tidsmæssig sammenhæng mellem eksposition og sygdomsudvikling samt dosis-respons effekt<sup>(10, tabel 3)</sup>.

### Hvad skyldes den øgede forekomst af allergi?

I det seneste årti er der fremført mange spændende hypoteser vedr. årsagen/årsagerne til den rapporterede stigende forekomst af allergiske sygdomme. Der er ingen tvivl om, at udvikling af allergisk sygdom afhænger af sammenspil mellem arvelige faktorer og en række miljøfaktorer, herunder naturligt forekommende allergener, tobaksrøg, luftforurening, infektioner, kostfaktorer og måske også andre hidtil upåagtede miljøafhængige faktorer/forhold. Vores viden vedr. genetiske faktorerets betydning for udvikling af allergisk sygdom er fortsat mangelfuld på trods af stor forskningsaktivitet.

---

Tabel 3. Kriterier for påvisning af årsagsvirkningssammenhæng mellem f.eks. eksposition for miljøfaktor og udvikling af ikke-infektios sygdom.

---

Biologisk plausibilitet  
Analoge associationer fra andre områder, f.eks. miljømedicin  
Tidsmæssig sammenhæng  
Dosis respons effekt  
Konsistens i resultaterne  
Aftagen i effekt når ekspositionen ophører

---

Vanskeligheden består i at definere velafgrænsede kliniske allergiske fænotyper<sup>2</sup>, som kan sammenholdes med veldefinerede genetiske faktorer. Det er usandsynligt, at en ændring af de genetiske faktorer kan forklare den rapporterede øgede forekomst af allergiske sygdomme i de seneste årtier. Derfor har interessen især samlet sig omkring den mulige betydning af miljøfaktorer, og selvom det ofte hævdes, at vores viden også på dette område er ufuldstændig og at mange nyere forskningsresultater forekommer modstridende og kontroversielle, afspejler det nok nærmere, at udvikling af allergi og den øgede allergiforekomst skyldes et samspil mellem mange forskellige faktorer og ikke kun ændring af en enkelt eller få miljøfaktorer. Størst interesse har samlet sig omkring følgende forhold: *tidlig ernæring og kostfaktorer, øget eksposition for især indendørs allergener/indeklima, hygiejne-hypotesen, luftvejsvirus infektioner samt forurening, såvel indendørs som udendørs.*

### Tidlig ernæring og kostfaktorer

I prospektive ikke-interventionsstudier er der demonstreret en sammenhæng mellem tidlig indtagelse af komælk og komælksprodukter og senere udvikling af fødevareallergi (især komælksallergi) og atopisk dermatitis. Ligesom tidlig introduktion af fast føde/tilskudskost før 4 måneders alderen synes forbundet med en øget forekomst af atopisk dermatitis. Brysternæring i de første levemåneder synes at be-

skytte mod udvikling af allergisk sygdom og reducerer forekomsten af astmatisk bronchitis og astma i barnealderen<sup>(11,12)</sup>.

Prospektive randomiserede kontrollerede interventionsstudier har også vist en forebyggende effekt af ren brysternæring/dokumenteret hypoallergen moderermælkserstatning i de første 4-6 levemåneder med hensyn til udvikling af fødevareallergi og atopisk dermatitis op til 5 års alderen hos børn med "høj-risiko" for allergi (en mor, far eller søskende med lægediagnostiseret allergisk lidelse).

Nogle tværsnitstudier har tydet på, at visse kostfaktorer som f.eks. lav indtagelse af frisk fisk, omega-3 fedtsyrer, høj indtagelse af salt (Na) eller utilstrækkelig indtagelse af antioxidanter kan påvirke udviklingen af astma og luftvejssygdomme<sup>(12-14)</sup>. Resultatet af prospektive og randomiserede kontrollerede interventionsstudier afventes. Nyere undersøgelser har også vist, at børn med overvægt har en højere forekomst af astma, men sammenhængen er ikke entydig. Opstår astmaen på grund af overvægten (eller andre faktorer, som er årsag til overvægten), eller opstår overvægten på grund af, at børn med astma er mindre fysisk aktive? Kun langtidsundersøgelser kan give et entydigt svar<sup>(13)</sup>.

### Øget eksposition for allergener og ændret indeklima

I lande med vestlig levevis tilbringer mange mennesker mere end 95% af tiden indendørs i tætte, velisolerede og kraftigt opvarmede moderne bygninger med et gunstigt indeklima

---

<sup>2</sup> Fænotype: egenskab, fremtoning. Et individs fænotype er resultatet af samspillet mellem genetiske faktorer og miljø.

---

(varme og fugt) for husstøvmider og skimmelsvampe. Det moderne indeklima med høje niveauer af husstøvmider og pelsdyr allergener kan have medvirket til den stigende forekomst af allergiske sygdomme. Adskillige prospektive undersøgelser har vist en korrelation mellem eksposition for allergener og sensibilisering og ligeledes er der påvist en korrelation mellem sensibilisering over for indendørs allergener (husstøvmider og pelsdyr, især kat) og astma. Imidlertid har man ikke på nuværende tidspunkt kunne påvise en sikker kausal korrelation mellem eksposition for indendørs allergener og opståen af astma. Dette tolkes af nogle således, at kraftig eksposition for f.eks. indendørs allergener ikke er årsag til astma, men at der oftere påvises allergi mod sådanne indendørs allergener hos individer med astma. Således er der i en nylig publiceret tysk undersøgelse ikke fundet sikker kausal korrelation mellem allergen eksposition og udvikling af astma ved 7 års alderen. Man skal nok være varsom med at udelukke en sådan kausal sammenhæng, idet astmadiagnosen i den pågældende undersøgelse var baseret på kliniske astmasymptomer og bronkial hyperreaktivitet. Det vil sige, astmagruppen omfattede både børn med allergisk astma og børn med ikke-allergisk astma. En kausal sammenhæng mellem allergeneksposition og udvikling af astma kan vel kun forventes, når det drejer sig om udvikling af allergisk astma <sup>(14)</sup>.

Velgennemførte kontrollerede randomiserede interventionsundersøgelser har også vist en signifikant effekt af allergenelimination ved hjælp af bl.a. midetætte madrasbetræk hos børn med astma og husstøvmide allergi <sup>(15)</sup>. Udover en sikker reduktion i midekoncentrationen var der også en udtalt klinisk effekt med reduktion af forbrug af inhalationssteroid til ca. 50% hos langt størstedelen af børnene i interventionsgruppen, en effekt, der svarer til en besparelse i astmamedicin på op til 40 mio. kr. årligt i Danmark.

En del, overvejende tværsnitstudier, har tydet på en mulig protektiv effekt af eksposition for pelsdyr, specielt kat, i de første leveår. Grundige analyser af større prospektive studier ty-

der på, at denne protektive effekt skyldes ”the healthy pet keeper” effekt, en selektionsbias, som skyldes, at familier med betydende allergi (pelsdyrallergi) netop ikke har/vil have pelsdyr eller skiller sig af med sådanne, hvis ældre børn har udviklet pelsdyrallergi <sup>(14)</sup>.

### Hygiejne hypotesen

Ifølge hygiejne hypotesen kan det tænkes, at den vestlige levevis med nedsat eksposition for infektionssygdomme medvirker til den stigende forekomst af allergisk astma, allergisk rhinitis og atopisk eksem <sup>(16, 17, 18)</sup>. En bedre hygiejne og færre søskende menes at være årsagen til at spædbørn ikke udsættes på samme måde for bakterier og virus som i tidligere tider med dårligere hygiejne og mindre plads. Formodningen bygges overvejende på tværsnitstudier og case-control studier, hvor man har fundet en højere forekomst af positiv serologi for hepatitis A virus, toxoplasma gondii og også helicobacter pylori hos voksne uden atopi. Det er blevet antaget, at visse infektioner kan beskytte mod allergi ved at påvirke balancen mellem Th1/Th2 lymfocytter til fordel for Th1 immunitet eller ved at påvirke immunregulationen via en indflydelse på Tr lymfocytter (regulatoriske T lymfocytter). Tværsnitstudier har vist en lavere forekomst af allergiske sygdomme blandt børn, der er opvokset på landbrug med kvæghold. Andre undersøgelser har vist en mulig sammenhæng mellem eksposition for endotoxin og andre bakterievægskomponenter og reduceret forekomst af allergisk sygdom hos børn. En mulig sammenhæng mellem gastrointestinal flora eller positiv serologi mod clostridium difficile, campylobacter jejuni og yersinia enterocolitica, er tillige blevet tolket som resultater, der understøtter hygiejne hypotesen <sup>(18)</sup>.

En lavere forekomst af allergiske sygdomme hos børn, der fødes som nr. 2 eller senere i en søskendeflok er tolket på samme måde, om end der kan være mange andre forklaringsmuligheder. Hygiejnehypotesen har fanget manges interesse, men kan ikke siges at være veldokumenteret med hensyn til kausale årsagsvirkningsmekanismer <sup>(18)</sup>.

---

## Andre infektioner

Med hensyn til øvre luftvejsvirus og specielt luftvejsinfektioner, forårsaget af RS-virus, synes der ikke at være nogen allergibeskyttende effekt. Tværtimod tyder tværsnitsstudier og case control studier på en øget forekomst af senere astma hos børn, der i tidlig barnealder har haft RS-virusinfektioner. Imidlertid kan der i disse studier godt være tale om selektionsbias og en endegyldig sammenhæng kan kun demonstreres i prospektive kohorte-undersøgelser, der også inkluderer asymptomatiske børn med RS-virus infektioner med henblik på langtidsopfølgning som kontroller <sup>(14)</sup>.

## Forurening

Adskillige studier har vist en signifikant positiv korrelation mellem forældres tobaksrygning og øget forekomst af astmatisk bronchitis (recurrent wheezing) og astma hos børn. Denne sammenhæng er stærkest op til 6 års alderen. Sværhedsgraden og forekomsten af symptomer er relateret til omfanget af tobaksexposition. Maternal rygning i graviditeten er også klart korreleret til nedsat lungefunktion i den tidlige barndom og recidiverende hvæsen/astmatisk bronchitis/astma i den tidlige barnealder. I nogle studier er der en øget forekomst af allergiudvikling over for indendørsallergener, i andre studier ikke <sup>(14)</sup>. Selvom frekvensen af rygere i flere industrialiserede lande rapporteres at være faldende, er der måske tale om en informationsbias. Således har man i en nylig dansk kohorteundersøgelse af nyfødte fundet, at nyfødte født i perioden 1998-1999 eksponeres for passiv rygning i samme omfang som en kohorte af nyfødte født i 1985 (69% versus 66%). For at opnå korrekte oplysninger om forældres rygning kan det være nødvendigt at validere spørgeskemaoplyste data om rygning med måling af markører for tobaksrygning som f.eks. kulilte <sup>(19)</sup>. Sammenlignet med tobaksrygning har andre mulige indendørs forureningskilder som nitrogen-oxider, røgpartikler, formaldehyd og flygtige organiske stoffer (VOCs) formentlig kun ringe betydning for udvikling af luftvejsallergiske sygdomme, men der kan være store geografiske og lokale for-

skelle. Udendørs luftforurening betyder ofte forværring af symptomer hos personer med kronisk bronchitis og astma, men der er ikke påvist nogen overbevisende kausal sammenhæng mellem udendørs forurening og udvikling af allergiske luftvejssygdomme <sup>(14)</sup>.

## Konklusion

Allergiske sygdomme forekommer i barnealderen hos 25-35%. Udviklingen af allergisk sygdom og opståen af sygdomsmanifestationer afhænger af en kompleks interaktion mellem genetiske og adskillige miljøfaktorer som f.eks. tidlig eksposition for fremmede fødevarerproteiner, inhalationsallergener og uspecifikke adjuverende faktorer som f.eks. tobaksrygning, luftforurening og infektioner/mikroflora og måske også visse kostfaktorer. De første leve-måneder synes at være en særlig vulnerabel periode, og der er evidens for at sensibilisering er positivt korreleret til graden af allergen eksposition. Tidlig sensibilisering over for især fødevarerallergener, men også inhalationsallergener og tidlig udvikling af bøjefureksem (atopisk dermatitis) er prædiktorer for senere udvikling af allergisk luftvejssygdom. Eksposition for indendørs allergener, specielt husstøvmider er en risikofaktor for sensibilisering og udvikling af astma senere i barndommen, især blandt børn med familiær disposition til allergisk sygdom og hos børn med tidlige allergiske manifestationer.

## Referencer

1. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J et al. *A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force.* Allergy 2001;56:813-24.
2. Høst A, Andrae S, Charkin S, Diaz-Vázquez C et al. *Allergy testing in children: why, who, when and how?* Allergy 2003;58:559-69.
3. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. *Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: ISAAC.* Eur Respir J 1998; 12:315-35.

- 
4. Burr ML, Butland BK, King S, Vaughan-Williams E. *Changes in asthma prevalence: two surveys fifteen years apart.* Arch Dis Child 1989;64:1452-6.
  5. Magnus P, Jaakkola JKK. *Secular trend in the occurrence of asthma among children and young adults critical appraisal of repeated cross-sectional surveys.* BMJ 1997;314:1795-99.
  6. Wieringa MH et al. *Increased occurrence of asthma and allergy: critical appraisal of studies using allergic sensitization, bronchial hyper-responsiveness and lung function measurements.* Clin Exp Allergy 2001;31(10):1553-63.
  7. Høst A, Halken S. *Can we apply clinical studies to real life.* Allergy 2002;57:389-97.
  8. Bergmann RL, Edenharter G, Bergmann KE et al. *Predictability of early atopy by cord blood-IgE and parental history.* Clin Exp Allergy 1997;27:727-60.
  9. Wahn U, von Mutius E. *Childhood risk factors for atopy and the importance of early intervention.* J Allergy Clin Immunol 2001;107:567-74.
  10. Hill AB. *The environment and disease association or causation?* Proc R Soc Med 1965;58:295-300.
  11. Odijk J van, Kull I, Borres MP, Brandtzaeg P et al. *Breastfeeding and allergi disease: a multidisciplinary review of the literature (1966-2001) on the mode of early feeding in infancy and its impact on later atopic manifestations.* Allergy 2003;58:833-43.
  12. Halken S, Høst A. *The lessons of noninterventional and interventional prospective studies on the development of atopic disease during childhood.* Allergy 2000;55:793-802.
  13. Vydykkhan TN, Dell S, Tassoudji M, Harris JK. *Is obesity associated with asthma in young children?* J Pediatr 2004;144:162-8.
  14. Halken S. *Early sensitisation and development of allergic airway disease – risk factors and predictors.* Paediatr Respir Rev 2003;4:128-34.
  15. Halken S et al. *Effect of mattress and pillow encasings on children with asthma and house dust mite allergy.* J Allergy Clin Immunol 2003;111(1):169-76.
  16. Strachan DP. *Family size, infection and atopy: the first decade of the “hygiene hypothesis”.* Thorax 2000;55:S2-S10.
  17. Martinez FD, Holt PG. *Role of microbial burden in aetiology of allergy and asthma.* Lancet 1999;354(sII):12-15.
  18. Matricardi PM. *The role of early infections, hygiene and intestinal microflora.* Pediatr Pulmonol 2004(suppl 26):211-12.
  19. Christensen AE, Tobiassen M, Jensen TK, Wielandt H et al. *Repeated validation of parental self-reported smoking during pregnancy and infancy: a prospective cohort study of infants at high risk for allergy development.* Paediatr Perinat Epidemiol 2004;18(1):73-9.
-

---

# Epidemiologisk vurdering af risici ved prænatal methylkviksølveksponering

Af Tina Kold Jensen<sup>1</sup>, Pål Weihe<sup>2</sup>, Esben Budtz-Jørgensen<sup>1</sup>, Froði Debes<sup>1</sup>, Philippe Grandjean<sup>1</sup>

---

## Introduktion

Methylkviksølv blev først kendt som neurotoksisk stof, da der i 1950'erne forekom alvorlige neurologiske sygdomme i den japanske fiskerihavn Minamata (Harada M). En lokal virksomhed havde brugt kviksølv i produktionen af organiske stoffer, og det forurenede spildevand førte til ophobning af methylkviksølv i fisk. Gravide kvinder kunne være stort set upåvirkede af eksponeringen, men i mange tilfælde fødte de børn med et spastisk parese syndrom. Det var således tydeligt, at hjernen er mere sårbar for neurotoksisk påvirkning, når den sker tidligt i udviklingen. Dette er blevet bekræftet ved senere forgiftningsepisoder (Grandjean et al., 2004).

Kviksølv findes naturligt i omgivelserne, men i gennemsnit kommer halvdelen og i nogle tilfælde hovedparten fra en lang række industrielle kilder, herunder kulforbrænding, affaldsforbrænding, sygehuse og tandlægeklinikker, forskellige industrier og guldminer (NRC 2000). I vandmiljøet omdannes uorganisk kviksølv til methylkviksølv, der ophobes i ferskvandsfisk og marine fødekæder, hvor ophobningen er særlig udtalt i havpattedyr og rovfisk.

Derfor har flere nationale og internationale organisationer gennemgået methylkviksølvs neurotoksitet (NRC, 2000, U.S.EPA, 2001, JECFA, 2003). De er alle enige om, at centralnervesystemet er særligt følsomt for prænatal udsættelse for methylkviksølv, men peger på, at de to største prospektive undersøgelser er nået frem til modsatrettede konklusioner. Det

kan da også se ud som om fundene i én undersøgelse er i modstrid med de øvrige, men det er ikke første gang i neurotoksikologiens historie, at der findes ”ikke-positive” fund og det er ikke ensbetydende med, at der ikke er en effekt (Needleman og Bellinger, 2001). På den anden side kan epidemiologiske undersøgelser aldrig give endelige beviser. Også tværsnitsundersøgelser peger på, at opmærksomhed, motorisk koordination og visuospatial<sup>3</sup> funktion er følsomme for methylkviksølveksponering, mens sprog og verbal hukommelse ikke blev testet (McKeown-Eyssen, 1983, Marsh, 1995, Counter, 1998, Murata, 1999, Grandjean, 1999, Cordier, 2002, Weihe, 2002). Tværsnitsundersøgelser kan dog aldrig være konklusive og denne artikel vil derfor gennemgå og diskutere fundene i de tre prospektive kohorteundersøgelser. Denne gennemgang bygger på et bogkapitel af Grandjean et al. (Grandjean et al., 2004).

## Den New Zealandske kohorte

I alt 11.000 mødre, som regelmæssigt spiste fisk, blev spurgt om deres ugentlige fiskeindtagelse og de 1000, som spiste mere end tre fiskemåltider ugentligt under graviditeten, fik målt hårkviksølv (Kjellstrøm et al., 1986). Af disse havde 73 kvinder hårkviksølv over 6 mg/kg. Dette niveau svarer til 6 gange den amerikanske grænseværdi. Ved 4-års alderen blev 31 af disse kvinders børn sammenlignet med 31 kontrolbørn med lavere eksponering, matchede på moderens etniske tilhørsforhold, barnets fødested og fødselsdag. De højt eksponerede børn scorede lavere i Denver Developmental Screening test (Kjellstrom et al., 1986).

---

<sup>1</sup> Miljømedicinsk Afdeling, Institut for Sundheds- tjenesteforskning, Syddansk Universitet.

<sup>2</sup> Afdeling for Arbejdsmedicin og Folkesundhed, Færøernes Sygehusvæsen.

---

<sup>3</sup> Visuospatielle funktion: Evnen til under forskellige omstændigheder at opfatte liniers, fladers og rums indbyrdes forhold.

---

Ved 6-års alderen blev den originale kohorte fulgt op og sammenlignet med tre kontrolgrupper - alle med lavere prænatal kviksølvexponering (Kjellstrom et al., 1989) efter matching på moderens etniske tilhørsforhold, rygning og alder, barnets fødested og køn. Mødrene i 2 af de 3 kontrolgrupper havde hårviksølvkoncentrationer på 3–6 ppm og 0–3 ppm. 61 ud af de oprindelige 74 højt eksponerede børn blev undersøgt (Kjellström et al., 1989). Da blyeksponering var en potentiel konfounder, blev blyindholdet i navlesnorsblod og i havejord målt, men der var ingen sammenhæng mellem bly og methylkviksølvexponering. Børn, hvis mødre havde høje hårviksølvkoncentrationer, scorede signifikant dårligere i Wechsler Intelligence Scale for børn (WISC-R), McCarthy scales for børn (perceptuel og motorisk) og i Test of Language Development (Kjellstrom et al., 1989) i multipel regressionsanalyse med kontrol for konfoundere. Regressionsmodellerne var robuste, men effekten blev reduceret af en ekstrem outlier (med hårviksølvkoncentration over 80 mg/kg). Senere blev data genanalyseret og denne outlier fjernet, hvilket medførte, at flere testresultater blev statistisk signifikante (Crump et al., 1998).

### Den færøske kohorte

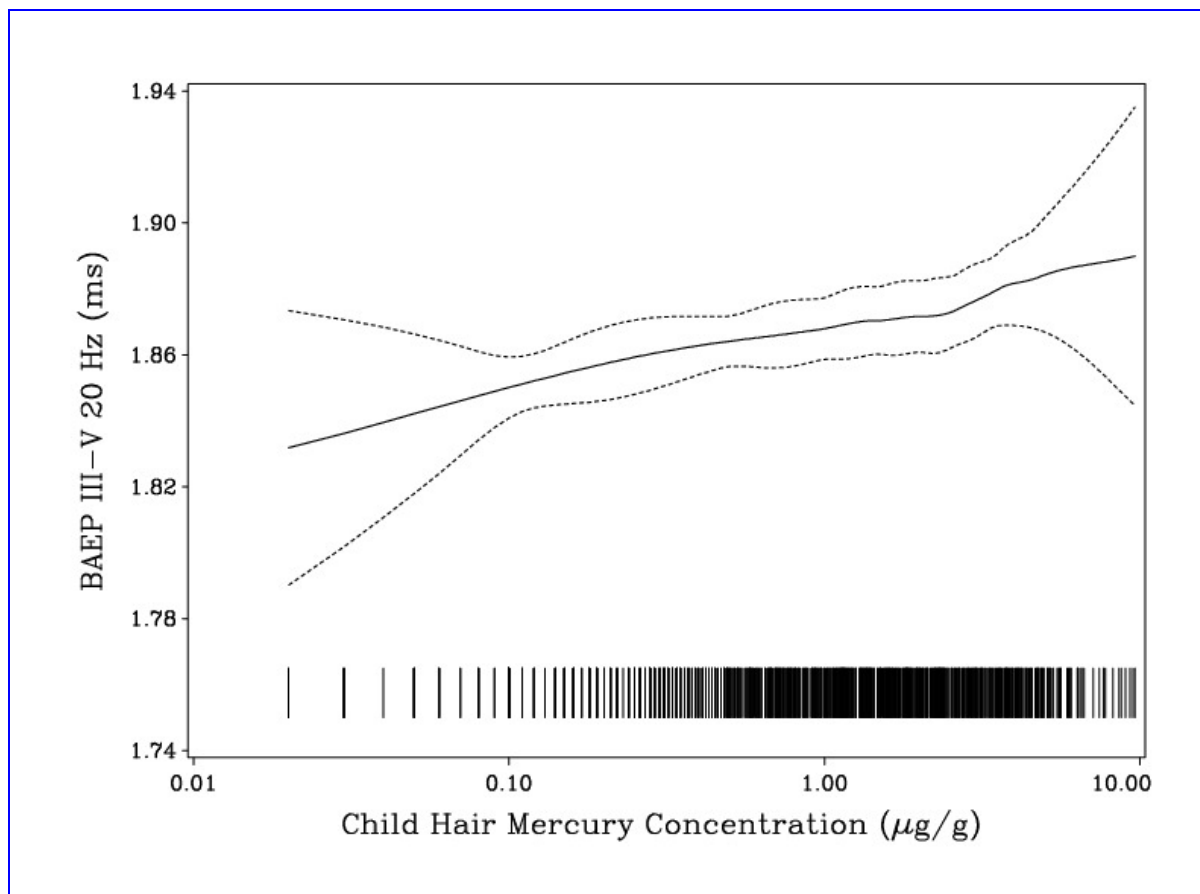
Eksponering for methylkviksølv på Færøerne skyldes overvejende befolkningens traditionelle anvendelse af grindekød i kosten. Indtagelse af hvalspæk medfører yderligere en eksponering for polychlorerede biphenyler (PCB). En prospektiv undersøgelse blev igangsat og omfattede 1022 børn født i 1986-87 (Grandjean et al., 1997). Prænatal methylkviksølvexponering blev målt i navlesnorsblod og i moderens hår. Detaljeret klinisk undersøgelse blev derefter gennemført i forårsmånederne i 1993 og 1994, dvs. da børnene var knap 7 år gamle, lige før de begyndte i skolen; 917 ud af de 1022 børn deltog (90,3 %). Den objektive undersøgelse omfattede specielt funktions-neurologisk undersøgelse samt måling af blodtryk og pulsvariation som mulige effektparametre. Neurofysiologiske undersøgelser omfattede hjernestammeaudiometri (se side 42 under neurofysiologiske tests), idet der tidligere er set for-

længet latenstid efter forgiftning med methylkviksølv. Størst vægt blev der lagt på neuropsykologiske målemetoder, udvalgt ud fra kendskab til de hjernefunktioner, som måtte formodes at blive påvirket af kviksølv. Børnene blev undersøgt igen som 14-årige med et lignende testbatteri og med en høj deltagerprocent.

Børn med høj prænatal kviksølvexponering havde nedsat sprogfunktion, opmærksomhedsniveau og hukommelse. Sammenhængen var mindre overbevisende for motoriske og visuospatielle funktioner. Samtidig var navlesnorskviksølvkoncentrationen den bedste eksponeringsmarkør (Grandjean et al., 1997). Fundene var uændrede, selvom de højest eksponerede individer blev ekskluderede. Samtidig sås en signifikant øgning af både systolisk og diastolisk blodtryk ved øget prænatal eksponering for methylkviksølv, hvor kurven fladede ud ved høje eksponeringer, samt en nedsat pulsvariation ved stigende eksponering. Disse fund kan tolkes som udtryk for en påvirkning af det parasympatiske nervesystem (Sørensen et al., 1999). Desuden viste hjernestammeaudiometri tydeligt forsinket overledning ved øget eksponering for kviksølv (Murata et al., 1999).

Data fra 14-års undersøgelsen er i øjeblikket ved at blive analyseret, men de neurofysiologiske fund er publiceret (Murata et al., 2004; Grandjean et al., 2004). Hjernestammeaudiometri viste, at den forsinkede overledning (peak III) ved øget eksponering for kviksølv, som allerede blev fundet ved 7-års alderen, persisterede ved 14-års alderen. Det tyder på, at methylkviksølv er toksisk for hjernestammen, og at effekten er varig. Hårviksølvkoncentrationen hos de 14-årige viste desuden en sammenhæng med forsinket overledning af peak V i hjernestammeaudiometri (Fig. 1) (Murata et al., 2004), hvilket peger på forsinket transmission i mellemhjernen som en funktion, der er påvirkelig af postnatal eksponering. Middel hårviksølvkoncentrationen hos de 14-årige var 1 µg/g, dvs. svarende til grænseværdien i USA. Det tyder på, at hjernen er sårbar, ikke kun i fostertilværelsen, men også frem til teenageperioden.





Figur 1. Forsinkelse af peak V målt i millisekunder ved hjernestammeaudiometri hos 859 færøske 14-årige børn i relation til nuværende hårviksølvkoncentration kontrolleret for alder og køn (fra Murata et al., 2004). Sammenhængen blev estimeret ved brug af generaliserede additive modeller med hårviksølvkoncentration hos de 14-årige som mål for nuværende eksponering. De stiplede linier viser 95% konfidensintervallet for dosis-respons sammenhængen. Alle lodrette linier over x-aksen repræsenterer en observation ved den givne eksponering. Den gennemsnitlige eksponering er den samme som den amerikanske grænseværdi (1 µg/g).

### Kohorterne på Seychellerne

To fødselskohorter med hver cirka 800 børn (50% af fødslerne i en årgang) blev dannet på Seychellerne (Shamlaye et al., 1995). Moderns hårviksølv blev anvendt som markør for prænatal eksponering, men hårprøven blev taget helt op til 6 måneder efter fødslen og derfor blev eksponeringen i graviditeten estimeret ved at antage, at afrikansk hår også vokser 1,1 cm om måneden. Forfatterne påpegede selv, at den første (pilot)undersøgelse ikke var så veludført som de efterfølgende longitudinelle undersøgelser. I alt 217 børn fra pilotkohorten blev

undersøgt ved 66 måneders alderen (Myers et al., 1995, Davidson et al., 1998) i disse 4 undersøgelsesaldrer. Børn, hvis mødre havde højt hårviksølv, klarede sig dårligere i McCarthy General Cognitive Index og Perceptual Performance subscale og i Preschool Language Scale Total Language and Auditory Comprehension subscale. Når outliers blev fjernet, forblev kun sammenhængen med den auditive forståelse signifikant.

I hovedundersøgelsen blev børnene undersøgt i 6,5, 19, 29 og 66-måneders alderen og igen i 8-års alderen. Der var ingen sammenhæng mel-

---

lem moderens hårkviksvælv og scoren i de fleste tests (Myers et al., 1995). Forfatterne påpegede dog, at de fleste neurologiske effekter med større sandsynlighed ville kunne findes hos ældre børn. De mest detaljerede undersøgelser med brug af de omtrent samme slags tests som på Færøerne og New Zealand blev derfor gennemført i 8-års alderen. Der var igen ingen sammenhæng mellem moderens hårkviksvælv og barnets test scorer (Myers et al., 2003).

### Sammenfattende om de 3 kohorter

På trods af de betydelige forskelle i de tre undersøgelser af kviksvælvexponerede børn er deres fund ikke nødvendigvis i modstrid med hinanden. Konfidensintervallerne på Færøerne og Seychellerne overlapper og resultaterne er derfor ikke signifikant forskellige (Keiding et al., 2003). Samtidig brugte undersøgelserne forskellige eksponerings- og effektmål. Kvinderne på New Zealand minder mere om europæiske og amerikanske kvinder, selvom halvdelen havde en anden etnisk baggrund, og selvom de spiser meget fisk og kun få af dem ryger. Undersøgelsen fra Seychellerne adskiller sig i flere henseender fra de øvrige undersøgelser.

### Eksponeringsmarkører

Når risikovurdering foretages, er det vigtigt, at eksponeringsmarkørerne måler den rigtige eksponering på det rigtige tidspunkt. Biomarkører er altid kun proxivariable for eksponeringen og derfor altid upræcise i større eller mindre grad. Som markør for den prænatale kviksvælvexponering har kohorteundersøgelserne målt moderens hårkviksvælv, navlesnorsblod og væv. Desuden har de brugt kostoplysninger fra spørgeskemaer.

Traditionelt har man anvendt en hårprøve til analyse for kviksvælv, dels fordi den er let at indsamle og transportere, dels fordi hårprøven kan opfattes som en kalender over eksponeringen gennem de tidligere måneder. Selvom væksthastigheden varierer, antages en 90 mm hårprøve, taget ved fødslen, at repræsentere kviksvælvexponeringen i hele graviditeten (hå-

ret gror 10 mm om måneden). I den New Zealandske og den færøske kohorte varierede den månedlige eksponering henholdsvis med en faktor 2 (Kjellstrom et al., 1989) og med en variationskoefficient på under 25% (Grandjean et al., 2003); sammenligning mellem hårprøver fra Færøerne og Seychellerne viste lignende variation (Lanzirrotti et al., 2002). Nye undersøgelser har fundet, at mange faktorer påvirker indholdet af kviksvælv i en hårprøve, og denne imprecision svarer til en variationskoefficient, der for hårkviksvælv er cirka 50% og mere end dobbelt så stor som imprecisionen i blodkoncentrationer (Budtz-Jørgensen et al., 2004). Effekten af en sådan imprecision vil betyde, at regressionskoefficienterne falder, p-værdierne stiger og korrektion for konfunderere med bedre præcision medfører, at en sand effekt kan forsvinde. (Budtz-Jørgensen et al., 2003).

### Effektvariable

De tests, som anvendes, skal være let gennemførlige og passende til alderen. Samtidig har tests, der kun kræver minimalt samarbejde, den fordel, at de ikke påvirkes af børnenes motivation. De mere avancerede neuropsykologiske tests kan kun gennemføres, når barnet har nået skolealderen. De kan dog være vanskelige at fortolke, hvis de ikke tidligere har været gennemført standardiseret i en lignende kultur. Samtidig kræver mange tests, at undersøgeren har specielle færdigheder. Der bør tages højde for alle disse forhold, når undersøgelsesresultaterne vurderes.

Alle undersøgelserne anvendte et testbatteri, hvor nogle tests tydeligvis var mere følsomme for kviksvælvexponering end andre. En del af denne forskel kan tilskrives psykometriske faktorer, herunder hvor god testen var til at separere beskedne forskelle i responset. Men sårbarheden af de pågældende hjernefunktioner spiller også en rolle. En sammenligning af regressionskoefficienterne kan pege på den mest følsomme test i den enkelte undersøgelse. Men for at kunne sammenligne resultaterne kan regressionskoefficienterne angives som en proportion af standardafvigelsen på testresultaterne. Ved anvendelse af den tilsvarende re-

---

gressionskoefficient for alder kan resultaterne også oversættes til en forsinkelse i den mentale udvikling (Grandjean 1997).

Alternativt kan benchmark (NCR 2000) dosis anvendes som et statistisk udtryk for et eksponeringsniveau, hvor der forekommer en bestemt grad af påvirkning, afhængig af den nærmere definition. De mest følsomme neurologiske, neuropsykologiske og neurofysiologiske effekter har benchmark dosis niveauer på 5-10 µg/g hår. Dette tyder på, at på trods af store variationer i undersøgelsesdesign og de anvendte tests, så er de samlede resultater overbevisende med hensyn til en dosis-response sammenhæng. I det efterfølgende fokuseres på neuropsykologiske og neurofysiologiske tests.

*Neuropsykologiske tests.* Disse tests kan være meget følsomme til at finde tidlige skader, men det er meget vigtigt, at testene udføres under standardiserede forhold og de afhænger af undersøgeren. På New Zealand testede to psykologer alle børnene og der var god overensstemmelse mellem deres testresultater (Kjellstrom et al., 1989). På Færøerne testede i næsten alle tilfælde den samme undersøger alle børnene, hvilket fjerner den potentielle fejl, der kan opstå ved variationen mellem undersøgerne.

På Færøerne blev testene udvalgt, så de testede forskellige områder i hjernen, der formodedes at være særligt følsomme for kviksølveksponering, f.eks. opmærksomhed, motorisk hastighed og verbal hukommelse. Boston Naming testen var mest følsom for kviksølveksponering. Lignende test blev inkluderet på Seychellerne, da børnene blev undersøgt som 8-årige, men brugen af denne test for første gang i en anden kultur er formentlig ikke uproblematisk.

*Neurofysiologiske tests.* Da disse tests objektivt måler dysfunktioner i hjernen, er de formentlig mindre påvirkede af konfounding. Til gengæld kræver de avanceret udstyr og uddannede undersøgere. Hjernestammeaudiometri er tidligere fundet følsom over for blyeksponering. Elektroder placeres på hovedbunden, og mens barnet gennem en hovedtelefon hører lydsigna-

ler i det ene øre, men støj i det andet, måles de elektriske signaler i hjernen, som ses som peaks, der repræsenterer aktiveringen af hørenerven, pons og midthjernen. Når den prænatale kviksølveksponering steg i den færøske undersøgelse, var peak III i 7-års alderen som tidligere anført signifikant forsinket. Dette blev genfundet i 14-års alderen, hvor nuværende eksponering for methyalkviksølv desuden medførte forsinkelse af peak V, hvilket peger på en effekt af nuværende eksponering, som er anderledes end den prænatale effekt (Fig. 1).

### Konfoundere

NIEHS (NIEHS, 1998) peger på tre hovedårsager til at effekten af kviksølveksponering kan have været overvurderet: (a) Sammenhæng med eksponering for andre neurotoksiske stoffer; (b) Andre typer af residual konfounding; (c) Utilstrækkelig korrektion for multiple sammenligninger. Disse problemer kan man tage hensyn til ved at vælge et homogent samfund med begrænsede sociale og kulturelle forskelle. Residual konfounding kan aldrig helt udelukkes, men det betyder ikke, at mange potentielle konfoundere skal inkluderes i regressionsanalysen. Samtidig kan konfoundere ikke kun påvirke testresultaterne i samme retning som eksponeringen, men også mod nul-hypotesen og dermed få en sand effekt til at forsvinde. Så en konfounder kan ikke bare betyde, at man over-, men også underestimerer en eksponeringseffekt.

Almindelig multipel regression anvendes ofte til at kontrollere for konfounding og kontrol for faktorer som alder, køn og moderens intelligens bør altid foretages, selvom de ikke påvirker kviksølvestimaterne. Da kviksølveksponeringen imidlertid er målt med nogen upræcisede og de potentielle konfoundere kan være mere præcist målt, kan inklusion af sådanne potentielle konfoundere, som er sammenhængende med eksponeringen, men ikke med outcome, underestimere effekten af eksponeringen (Budtz-Jørgensen et al., 2003).

En af de vigtigste konfoundere er socioøkonomiske forhold. New Zealand og Færøerne er

---

rige, industrialiserede, vestlige lande med relativt små sociale forskelle, mens Seychellerne er et udviklingsland med helt andre problemer, der kan være vanskelige at tage højde for. Familiestrukturen og miljøet i hjemmet betyder ligeledes meget for barnets udvikling. Som udtryk for de store forskelle, også inden for en kohorte, så havde 25% af alle børn, født på Seychellerne, ingen kendt fader, og børnene blev derfor fulgt til undersøgelserne af nærmeste familiemedlem, som barnet boede sammen med (Myers et al., 2003). Denne varierende familiestruktur kan være vanskelig at justere for i statistiske analyser og står i kontrast til et mere traditionelt familiemønster på Færøerne og New Zealand. I den New Zealandske undersøgelse deltog kvinder med forskellig etnisk baggrund og lav social klasse. Andet sprog end engelsk i hjemmet var ikke overraskende sammenhængende med lav score i nogle tests (Kjellstrom et al., 1989). Der blev imidlertid kontrolleret for disse forskelle i den multiple regressionsanalyse.

Eksposering for andre potentielt neurotoksiske forureningsstoffer kan være et problem i undersøgelserne. Færinger indtager grindespæk, som indeholder PCB, men analyser af PCB i navlesnorsblod viste kun svage sammenhænge med outcome og kviksølvseffekterne reduceredes kun lidt, når de blev justeret for PCB (Budtz-Jørgensen et al., 1999, 2002; Grandjean et al., 2001). Saltvandsfisk er langt mindre forurenede med PCB, specielt på den sydlige halvkugle, så dette problem eksisterer formentlig ikke i nævneværdig grad på New Zealand og Seychellerne. På Seychellerne anvendes derimod pesticider til insekt- og ukrudtsbekæmpelse, og indtagelse af pesticidrester i frugt kan være neurotoksisk, hvilket der ikke er redegjort for i undersøgelsen. Dette er overraskende i betragtning af kendte eksponeringer for disse stoffer i tropiske udviklingslande.

Fisk og skaldyr indeholder imidlertid også essentielle n-3 fedtsyrer og selen, som kan være gavnlige for hjernens udvikling og dermed modvirke effekten af forureningsstofferne. Kemisk analyse af saltvandsfisk fra New Zealand viste, at selen koncentrationen var uafhængig

af fiskens størrelse, mens kviksølv koncentrationen steg lineært med fiskens størrelse (Kjellstrom, 2000). Det har været foreslået, at selen skulle beskytte mod effekterne af kviksølv; koncentrationerne af selen i navlesnorsblod på Færøerne havde dog ingen effekt på de kviksølvmædierede effekter.

### Samfundsmæssig betydning

Den aktuelle samfundsmæssige diskussion af kviksølvs farlighed har som anført været farvet af, at undersøgelsesresultaterne er opfattet som positive eller negative. Denne fejlfortolkning har ført til uenighed mellem regulerende myndigheder og er blevet udnyttet af grupper med økonomiske interesser. Man har haft indtryk af, at det var konklusionen, der var afgørende for, om man fandt en bestemt undersøgelse fejlfri eller ideel. I epidemiologi bruges udtrykket ikke-positivt fund ofte til at beskrive undersøgelser, der ikke kunne finde en bestemt effekt. Men ligegyldigt hvor positiv en undersøgelse er, har alle, som det også fremgår af denne artikel, både styrker og svagheder. Derfor må en vurdering af kviksølvs farlighed baseres på den samlede bevismængde og ikke på enkeltundersøgelser, ligegyldigt om de er positive eller negative. Ved denne gennemgang har vi vist, at kviksølvs neurotoksitet er veldokumenteret og at effekter kan ses ved lave eksponeringer. Der er ingen tvivl om, at meget alvorlige konsekvenser ved prænatal eksponering sås i Minamata ved kviksølvkoncentrationer i moderens hår på 10–100 µg/g (Tsubaki and Irukayama, 1977; NRC, 2000; UNEP, 2002). Det virker derfor plausibelt, at mindre alvorlige effekter kan ses ved de eksponeringsniveauer, som er til stede i de nyere longitudinelle undersøgelser. Da kviksølvkontamineringen af fisk er et globalt fænomen, er det vigtigt, at de videnskabelige undersøgelser bliver kommunikeret på en måde, der muliggør en evaluering af deres samfundsmæssige betydning.

De færøske data er således blevet oversat til, at en fordobling af den prænatale kviksølv eksponering medførte en 2 måneders forsinkelse i den mentale udvikling ved 7-års alderen (Grandjean et al., 1997). Da udviklingen i den-

---

ne alder er hurtig, kan en sådan forsinkelse være af stor betydning, specielt hvis - som man må formode - den er af varig karakter. Ligeledes kan selv små skift centralt i en fordelingskurve betyde store ændringer mod yderpunkterne af denne. Erfaringerne med bly tyder på, at effekterne er blivende og måske bliver mere fremtrædende med tiden.

I den New Zealandske undersøgelse var middel WISC-R samlet IQ 93 for hele gruppen (n=237) (Kjellstrom et al., 1989), mens den i gruppen, hvor moderens hårviksvælv var >6 mg/kg (n=61), og som dermed havde en 6 gange højere eksponering, var 90. På Færøerne er intelligens, og dermed IQ, ikke blevet målt med de foretagne tests. I stedet blev regressionskoefficienterne udtrykt som procent af standard deviationen på testresultaterne (Grandjean et al., 1997). De mest følsomme testresultater faldt 10% af standard deviationen ved en fordobling af den prænatale kviksvælv eksponering. Den måleskala, der traditionelt anvendes ved intelligens testning, sætter gennemsnit til 100 og 1 standardafvigelse til 15. En fordobling af den prænatale kviksvælv eksponering vil da, når den udtrykkes på denne skala, betyde et fald på 1,5 points. Dette svarer således helt til størrelsen i de New Zealandske fund.

Alle disse estimeringer er forbundet med nogen usikkerhed, men dokumentationen for kviksvælvs farlighed bliver ikke bedre end den er på nuværende tidspunkt og de regulerende myndigheder bør derfor tage stilling på foreliggende grundlag. Hvorvidt beslutninger skal træffes på baggrund af dokumenterede skadevirkninger eller ved anvendelse af forsigtighedsprincippet kan dog ikke besvares ud fra epidemiologiske undersøgelser. Erfaringerne fra blyforskningen (Bellinger og Needleman, 2001) har illustreret den uoverensstemmelse mellem de enkelte undersøgelser fund.

Kohorteundersøgelserne på Færøerne har haft stor betydning for kostanbefalingerne for grindekød og spæk. De færøske myndigheder lagde resultaterne fra ovenstående undersøgelse til grund for kostanbefalingerne i 1998.

Kvinder, som påtænker graviditet, er gravide eller som ammer blev heri rådet til helt at undgå indtagelse af grindekød. Desuden blev alle kvinder rådet til at undgå indtagelse af grindekød i det hele taget indtil efter den fertile alder (på grund af PCB indholdet i fedt).

Den stadige kommunikation til offentligheden af undersøgelsesresultaterne har sammen med myndighedernes kostanbefalinger bevirket, at gravides udsættelse for kviksvælv er reduceret dramatisk. Median kviksvælvkoncentration i navlesnorsblod i 1986-87 var 24 mikrogram per liter, mens den i 2000-2001 i fuldblod i 3. trimester var 1,5 mikrogram per liter.

Undersøgelserne har siden også haft betydning for grænseværdifastsættelsen for metylkviksvælv i udlandet. Således har både US-EPA og WHO lagt undersøgelsesresultaterne fra Færøerne til grund for deres vurdering af kviksvælvs farlighed.

### Acknowledgements

The present study received financial support from the Danish Environmental Protection Agency as part of the environmental support program Dancea - Danish Cooperation for Environment in the Arctic and from NIH and The Danish Research Council.

### Referencer

- Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Grandjean P, White RF, Weihe P. *Methylmercury neurotoxicity independent of PCB exposure [letter]*. Environ Health Perspect 1999;107:A236-237.
- Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Grandjean P, Weihe P. *Estimation of health effects of prenatal methylmercury exposure using structural equation models*. Environ Health 2002;1:2.
- Budtz-Jørgensen E, Keiding N, Grandjean P, Weihe P, White RF. *Consequences of exposure measurement error for confounder identification in environmental epidemiology*. Stat Med 2003;22:3089-3100.

- 
- Budtz-Jørgensen E, Grandjean P, Jørgensen PJ, Weihe P, Keiding N. *Association between mercury concentrations in blood and hair in methylmercury-exposed subjects at different ages*. Environ Res (in press), 2004.
- Cordier S, Garel M, Mandereau L, Morcel H, Doineau P, Gosme-Seguret S, Josse D, White R, Amiel-Tison C. *Neurodevelopmental investigations among methylmercury-exposed children in French Guiana*. Environ Res 2002;89:1-11.
- Counter SA, Buchanan LH, Laurell G, Ortega F. *Blood mercury and auditory neuro-sensory responses in children and adults in the Nambija gold mining area of Ecuador*. Neurotoxicology 1998;19:185-96.
- Crump KS, Kjellstrom T, Shipp AM, Silvers A, Stewart A. *Influence of prenatal mercury exposure upon scholastic and psychological test performance: benchmark analysis of a New Zealand cohort*. Risk Analysis 1998;18:701-13.
- Davidson PW, Myers GJ, Cox C, Axtell C, Shamlaye C, Sloane-Reeves J, Cernichiari E, Needham L, Choi A, Wang Y, Berlin M, Clarkson TW. *Effects of prenatal and postnatal methylmercury exposure from fish consumption on neurodevelopment: outcomes at 66 months of age in the Seychelles Child Development Study*. JAMA 1998;280:701-7.
- Grandjean P, Cordier S, Kjellström T. *Developmental neurotoxicity associated with dietary exposure to methylmercury from seafood and freshwater fish*. In: Bellinger D (ed) Human developmental neurotoxicology. New York: Marcel Dekker, 2004 (in press).
- Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Murata K, Sørensen N, Dahl D, Yokoyama K, Jørgensen PJ. *Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury*. Neurotoxicol Teratol 1997;19:417-28.
- Grandjean P, Weihe P, Burse VW, Needham LL, Storr-Hansen E, Heinzow B, Debes F, Murata K, Simonsen H, Ellefsen P, Budtz-Jørgensen E, Keiding N, White RF. *Neurobehavioral deficits associated with PCB in 7-year-old children prenatally exposed to seafood neurotoxicants*. Neurotoxicol Teratol 2002;23:305-17.
- Grandjean P, White R, Nielsen A, Cleary D, deOliveira-Santos E. *Methylmercury neurotoxicity in Amazonian children downstream from gold mining*. Environ Health Perspect 1999;107:587-91.
- Grandjean P, Cordier S, Kjellström T. *Developmental Neurotoxicity Associated with Dietary Exposure to Methylmercury from Seafood and Freshwater Fish*. In Bellinger D, ed. Human Developmental neurotoxicology. New York: Marcel Dekker (in press).
- Harada M. *Minamata disease: methylmercury poisoning in Japan caused by environmental pollution*. Crit Rev Toxicol 1995;25:1-24.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *Sixty-first meeting, Rome, 10-19 June 2003. Summary and conclusions*. <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa61sc.pdf> (accessed, 19 December, 2003)
- Keiding N, Budtz-Jørgensen E, Grandjean P. *Prenatal methylmercury exposure in the Seychelles [letter]*. Lancet 2003;362:664-5.
- Kjellstrom T. *Methyl-mercury exposure and intellectual development in vulnerable groups in New Zealand*. Proceedings of the US-Japan workshop, Nov. 2000. Minamata, Japan, National Institute for Minamata Disease, 2000.
- Kjellström T, Kennedy P, Wallis S, Stewart A, Friberg L, Lind B, Wutherspoon T, Mantell C. *Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. Stage 2, interviews and psychological tests at age 6*. (Report 3642) Stockholm, National Swedish Environmental Protection Board, 1989.
- Kjellström T, Kennedy P, Wallis S, Mantell C. *Physical and mental development of children with prenatal exposure to mercury from fish. Stage 1: Preliminary tests at age 4*. (Report 3080) Stockholm, National Swedish Environmental Protection Board, 1986.
- Lanzirotti A, Jones KW, Clarkson TW, Grandjean P. *Human health risks from methyl mercury in fish*. Science Highlights - National Synchrotron Light Source Activity Report. Upton, NY: Brookhaven National Laboratory, 2002, pp. 97-9.
-

---

Marsh DO, Turner MD, Smith JC, Perez VMH, Allen P, Richdale N. *Fetal MeHg study in a Peruvian fish eating population*. *Neurotoxicology* 1995; 16:717-26.

McKeown-Eyssen G, Ruedy J, Neims A. *Methylmercury exposure in northern Quebec. II. Neurologic findings in children*. *Am J Epidemiol* 1983; 118:470-9.

Murata K, Weihe P, Renzoni A, Debes F, Vasconcelos R, Zino F, Araki S, Jorgensen P, White R, Grandjean P. *Delayed evoked potentials in children exposed to methylmercury from seafood*. *Neurotoxicol Teratol* 1999;21:343-8.

Murata K, Weihe P, Budtz-Jørgensen E, Jørgensen PJ, Grandjean P. *Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year-old children exposed to methylmercury*. *J Pediatr* 2004;144:177-83.

Murata K, Sakamoto M, Nakai K, Weihe P, Dakeishi M, Iwata T, Lui X-J, Ohno T, Kurosawa T, Kamiya K, Satoh H. *Effects of prenatal methylmercury exposure on neurodevelopment in Japanese children*. *Proceedings of the National Institute of Minamata Disease Conference, Niigata, Japan, 2003* (in press).

Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Tanner MA, Marsh DO, Cernichiari E, Lapham LW, Berlin M, Clarkson TW. *Summary of the Seychelles child development study on the relationship of fetal methylmercury exposure to neurodevelopment*. *Neurotoxicology* 1995;16:711-6.

Myers GJ, Davidson PW, Cox C, Shamlaye CF, Palumbo D, Cernichiari E, Sloane-Reeves J, Wilding GE, Kost J, Huang LS, Clarkson TW. *Prenatal methylmercury exposure from ocean fish consumption in the Seychelles child development study*. *Lancet* 2003;361:1686-92.

Needleman HL, Bellinger D. *Studies of lead exposure and the developing central nervous system: a reply to Kaufman*. *Arch Clin Neuropsychol* 2001; 16:359-74.

NIEHS. Workshop organized by Committee on Environmental and Natural Resources (CENR), Office of Science and Technology Policy (OSTP), *The White House: Scientific Issues Relevant to Assessment of Health Effects from Exposure to*

*Methylmercury, November 18-20, 1998* [accessed, December 19, 2003].

WkshpRpt.html (accessed, 19 December, 2003). [http://ntp-server.niehs.nih.gov/main\\_pages/PUBS/MethMercWkshpRpt.html](http://ntp-server.niehs.nih.gov/main_pages/PUBS/MethMercWkshpRpt.html)

NRC (National Research Council). *Toxicological Effects of Methylmercury*. National Academy Press, Washington, 2000.

Shamlaye CF, Marsh DO, Myers GJ, Cox C, Davidson PW, Choisy O, Cernichiari E, Choi A, Tanner MA, Clarkson TW. *The Seychelles child development study on neurodevelopmental outcomes in children following in utero exposure to methylmercury from a maternal fish diet: background and demographics*. *Neurotoxicology* 1995; 16:597-612.

Sullivan K. *Neurodevelopmental aspects of methylmercury exposure: neuropsychological consequences and cultural issues*. PhD. Thesis in Behavioral Neuroscience, Boston University School of Medicine, 1999.

Sørensen N, Murata K, Budtz-Jørgensen E, Weihe P, Grandjean P. *Blood pressure and heart rate in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury*. *Epidemiol* 1999;10:370-5.

Tsubaki T, Irukayama K. *Minamata disease: methylmercury poisoning in Minamata and Niigata, Japan*. Amsterdam, Elsevier Scientific Publ Co., 1977.

UNEP (United Nations Environment Programme). *Global Mercury Assessment*. Geneva, 2002.

U.S. EPA (Environmental Protection Agency), Office of Science and Technology, Office of Water. *Water Quality Criterion for the Protection of Human Health: Methylmercury, Final*. EPA-823-R-01-001. Washington, 2001. URL: <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/methylmercury/document.html> (accessed, 19 December, 2003).

Weihe P, Hansen JC, Murata K, Debes F, Jorgensen PJ, Steuerwald U, White RF, Grandjean P. *Neurobehavioral performance of Inuit children with increased prenatal exposure to methylmercury*. *Int J Circumpolar Health* 2002;61:41-9.

