

MELLEMKØDET SLADRER OM SKADELIGE KEMIKALIER

Forfatterne

Anne Marie Vinggaard er professor ved DTU Fødevareinstituttet annv@food.dtu.dk

Terje Svingen er seniorforsker ved DTU Fødevareinstituttet tesv@food.dtu.dk

Camilla Lindgren Schwartz er ph.d.-studerende ved DTU Fødevareinstituttet cavi@food.dtu.dk

Carsten R. Kjaer
Aktuel Naturvidenskab
crk@aktuelnaturvidenskab.dk



**DET FRIE
FORSKNINGSRÅD**
DANISH COUNCIL
FOR INDEPENDENT
RESEARCH

Artiklen bringes i samarbejde med Det Frie Forskningsråd | Natur og Univers.

Det Frie Forskningsråd dækker alle videnskabelige hovedområder og uddeler hvert år godt 1 mia. kr. til forskningsprojekter baseret på forskernes egne ideer. Det Frie Forskningsråd består af 84 anerkendte forskere udpeget på baggrund af deres høje faglige kompetence. Formand for Det Frie Forskningsråd | Natur og Univers er professor ved Danmarks Tekniske Universitet, Lars Arge. Læs mere på detfrieforskningsraad.dk

Flere og flere drengebørn fødes med symptomer på, at de har været udsat for hormonforstyrrende stoffer under graviditeten og derfor selv kan få problemer med at få børn som voksne. Et vigtigt skridt på vejen til at gøre noget ved dette samfundsproblem er at forstå i detaljer, hvordan området mellem anus og kønsorganerne udvikler sig i fostret.

Mellemkødet kalder vi normalt bare området mellem anus og kønsorganerne. Og det er jo sjældent det område på kroppen, der påkalder sig den største opmærksomhed. Men hvis man bekymrer sig om den reproduktive sundhed hos den mandlige del af befolkningen, er der god grund til at interessere sig for mellemkødet – eller rettere længden af det, som på fagsprog kaldes den anogenitale afstand. Det har nemlig vist sig, at afstanden mellem anus og kønsorganerne på en nyfødt dreng kan være en markør for, om han som voksen selv vil få problemer med at få børn.

Ny fødte piger har kortere mellemkød end drenge, og når drenge fødes med usædvanligt kort mellemkød er det i virkeligheden et feminint træk. Det afspejler en “fe-

minisering” af fostret, der er sket, fordi de mandlige kønshormoner (primært testosteron og dihydrotestosteron), er blevet svækkede i at udøve deres virkning på rette tid og sted.

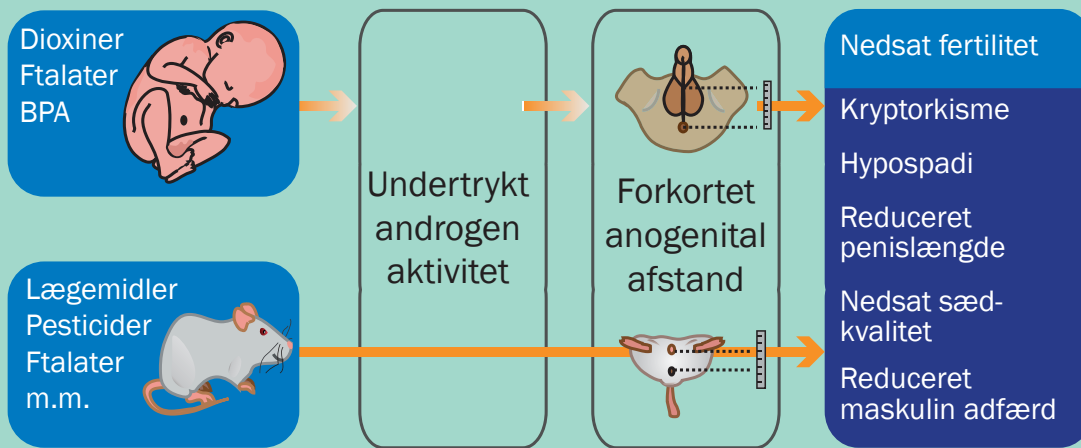
I de senere år har vi set et stigende antal drengebørn født med forkortet anogenital afstand og andre tegn på reproduktionsforstyrrelser som misdannede kønsorganer. Denne tendens blev først observeret i den vestlige verden inklusive Australien, men begynder nu også at ses i visse egne af Asien og Sydamerika. Man mener, at en af de væsentlige årsager til denne stigning er, at fostrene er blevet udsat for kemikalier med hormonforstyrrende effekt.

Hvis vi vil forbedre den reproduktive sundhed i befolkningen, er det vigtigt, at vi grundlæggende forstår de mekanismer, der giver sig udslag i

unaturlig feminisering af drengefostre, og hvordan hormonforstyrrende stoffer griber ind i den normale udvikling. Det er nødvendigt for at kunne beskytte vores endnu ufødte børn mod at skulle vokse op med øget risiko for ikke selv at opleve glæden ved at blive forældre.

Kemikalier og cocktail-effekter

I et nyt projekt finansieret af Det Frie Forskningsråd | Natur og Univers forsøger vi på DTU Fødevareinstituttet at afdække de molekylære mekanismer, der ligger bag udviklingen af længden af mellemkødet. Baggrunden er, at vi i vores forskningsgruppe i mange år har forsket i kemikaliers hormonforstyrrende effekt. Vi har i dyre- og celleforsøg identificeret flere nye hormonforstyrrende stoffer, blandt andet nogle pesticider, bisphenol A og ftalater. Derudover har vi haft meget fokus på at undersøge såkaldte cock-



Hormonforstyrrende stoffer kan undertrykke aktiviteten af mandlige kønshormoner (androgener) i fostre af hankøn, hvilket kan lede til en reduceret afstand mellem anus og kønsorganer hos den nyfødte. Der er en sammenhæng med

symptomer vist i boksen til højre. Kryptorkisme betyder, at testiklerne ikke er faldet end i pungen, mens hypospadi betyder, at urinrøret udmunder på undersiden af penis. Illustration: Terje Svingen

Cocktaileffekter

Når man taler om kemikaliers cocktaileffekter mener man, hvordan kemikaliernes samlede virkning på en organisme kan adskille sig fra virkningen af de enkelte kemikalier hver for sig. Her viser vores forskning, at kemikalierne ofte virker additivt, hvilket ikke skal forstås ud fra en rent "matematisk" synsvinkel, så man bare kan addere effekterne af

kemikalierne. Hvis man gør det, er der tale om såkaldt effekt-summation, som er intuitivt appellerende, men ofte fører til forkerte konklusioner. Det er vigtigt at addere effekterne ved det, man kalder ækvivalente doser, altså ved doser, der forårsager det samme effektniveau. Når man gør det og kan vise, at det ene stof kan virke som en given for-

tynding af det andet stof, taler man om en additiv effekt.

I nogle tilfælde ses synergi, hvilket betyder at effekten, der opstår ved eksponering til to eller flere kemikalier, er større end en additiv effekt. Der ses også eksempler på det modsatte, hvor effekten er mindre end additiv. Det kaldes antagonisme.

tail-effekter af kemikalier i eksperimentelle systemer – altså hvordan en række forskellige kemikaliers samlede virkning på en organisme adskiller sig fra virkningen af de enkelte kemikalier hver for sig.

Et af målene med vores forskning er at udvikle redskaber til at forudsige cocktail-effekter, sådan at der kan tages højde for dem i risikovurderingen af kemikalier. Men for at forstå, hvorledes cocktail-effekter opstår, må vi udbygge vores viden om, hvordan de forskellige kemikalier forårsager de observerede effekter helt ned på molekylært og mekanistisk niveau.

En fælles mekanisme for mange pattedyr

En af de væsentlige grunde til, at de molekylære mekanismer der er involveret i udviklingen af mellemkødet er særligt interessante, er,

at det ikke kun er hos mennesker, at et forkortet mellemkød kan bruges til at forudsige potentielle problemer med den reproduktive sundhed som voksen. Det samme er også tilfældet hos mus og rotter. Vi har vist, at flere kemikalier, for eksempel pesticider, ftalater og visse lægemidler, er i stand til at reducere den anogenitale afstand hos hanafkom, og at dette er en markør for reproduktionsskader hos hannerne, når de bliver voksne. Sandsynligvis er de molekylære signalveje ens for mange forskellige pattedyr. Fordelen ved det er, at vi kan bruge forsøgsdyr til at teste den hormonforstyrrende effekt af forskellige stoffer og overføre disse resultater til mennesker.

I dette forskningsprojekt bruger vi primært rotter – simpelthen fordi de er større end mus, og det derfor er lettere at måle effekten på den

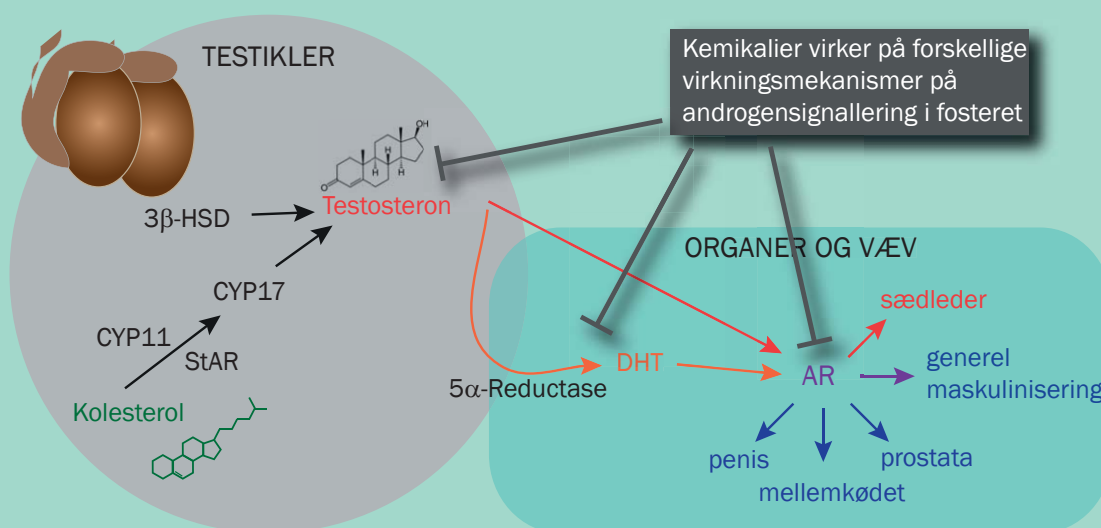
anogenitale afstand, og fordi vores historiske database bygger på rottestudier.

Når fosteret bliver feminiseret

Når drengefostre er specielt sårbare overfor kemikalier med hormonforstyrrende effekt, skyldes det, at udviklingen af afgørende mandlige træk er direkte afhængig af kønshormoner specielt i fostertilværelsen.

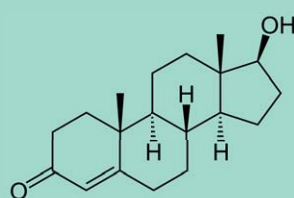
Både de kvindelige og mandlige kønsorganer bliver udviklet fra de samme grundstrukturer i det tidlige foster. Differentieringen sker som respons på signaler fra gener og hormoner. Mens udviklingen af testikler og æggestokke bestemmes af udtryk af nogle specifikke gener, er det kønshormoner, der styrer udviklingen af skeden og penis såvel som de sekundære kønstræk. De mandlige kønshor-

Det mandlige kønshormon

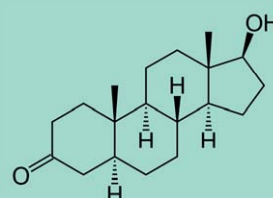


Det mandlige kønshormon testosteron dannes i testiklerne i specialiserede celler kaldet Leydig-celler. Processen kaldes overordnet steroidsyntese (eller kønshormonsyntese), og det er en kompliceret proces, hvor kolesterol omdannes til testosteron i flere trin, der involverer mange forskellige enzymer (nogle af dem er nævnt på figuren som for eksempel CYP-faktorer).

Når testosteron er dannet, udskilles det fra testiklerne med blodstrømmen og når derved frem til andre organer i kroppen. I den proces omdanner enzymet 5-alfa Reductase testosteron til dihydrotestosteron (DHT), som er den mest potente form af hormonet. Det binder sig efterfølgende til androgenrecep-



Testosteron

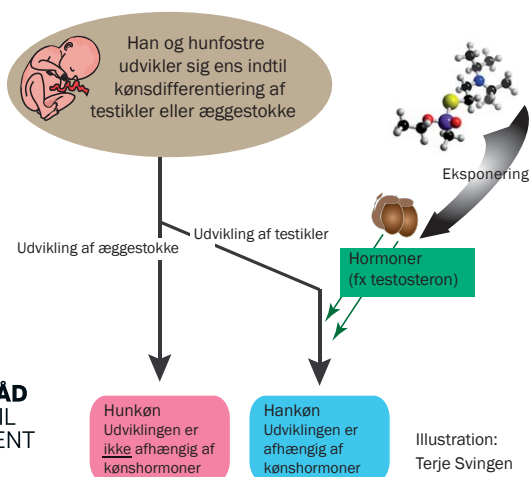


Dihydrotestosteron

tor (AR), der er et protein, der kan befinde sig i cellens cytoplasma eller i kernen afhængig af, om det er aktivt eller ej. Herved bliver androgenreceptoren aktiveret, og den fungerer nu som en såkaldt transkriptionsfaktor, der regulerer udtrykket af en række gener. Testosteron kan også binde sig til androgenreceptoren, men det giver et mindre kraftigt signal. Androgen-

signaleren er dog generelt en kompliceret affære, hvor typen af væv og den præcise timing også spiller en rolle for virkningen af henholdsvis testosteron og dihydrotestosteron.

Som det fremgår på figuren, kan kemikalier gribe forstyrrende ind flere steder i processen. Illustration: Terje Svingen



moner – androgenene – produceres i testiklerne, og det er deres tilstedeværelse, der giver signal til fosteret om at udvikle de sekundære mandlige kønsorganer samt mandlige kønstræk. Det er til gengæld ikke de kvindelige kønshormoner, østrogenene, der bestemmer, at fosteret skal udvikle sekundære kvindelige kønsorganer og kønstræk. Det er fraværet af de mandlige kønshormoner, der fører til udvikling af den hunlige fænotype. Denne kønsudvikling udspringer i et relativt snævert programmeringsvindue i den ottende til fjortende uge under graviditeten. Indenfor dette tidsrum er fosteret, og især drengfosteret, derfor specielt følsomt overfor forstyrrelse af hormonsystemet. Hvis androgenenes



Om forskerne

Den overordnede ambition for forskningsgruppen for Molekylær- og Reproduktionstoksicitet på DTU Fødevareinstituttet er at forebygge sygdomme, der kan opstå, når mennesker under udviklingen udsættes for kemiske stoffer, der findes i fødevarer og miljø.

Anne Marie Vinggaard (tv) er professor i gruppen og er internationalt anerkendt for sin forskning indenfor hormonforstyrrende kemikalier. I bagagen har hun en baggrund som ph.d.-studerende og postdoc ved Københavns Universitet med fokus på cellulære signaleringsveje, mange års forskning i kemikaliers hor-

monforstyrrende effekter og deres kombinationseffekter plus nogle få års arbejde i lægemiddelbranchen indenfor "early toxicity testing" af lægemidler.

Terje Svingen (th) er seniorforsker med baggrund som molekylær udviklingsbiolog. Han har i flere år forsket i kønsudvikling ved Queensland University (Australien) med fokus på, hvorledes kønnet bliver bestemt under fosterstadiet, og hvilke konsekvenser forskellige genforstyrrelser eller mutationer kan have på efterfølgende kønsudvikling. I de senere år har han arbejdet både ved Afdeling for Vækst og Repro-

duktion på Rigshospitalet og nu ved DTU Fødevareinstituttet med fokus på, hvordan hormonforstyrrende kemikalier kan forstyrre den normale udvikling af kønsorganer eller reproduktionssystemet generelt.

Camilla Lindgren Schwartz er ph.d.-studerende og har en baggrund i Molekylær Biomedicin fra Københavns Universitet, en uddannelse med stort fokus på de molekylære mekanismer, der ligger til grund for human patofysiologi. Endvidere har hun studeret på McMaster University (Canada) og Harvard University (USA), hvor fokus blandt andet har været tidlig udviklingsbiologi.

aktivitet bliver undertrykt i denne periode, er der en større risiko for, at drengebarnet bliver født med kønsorganer, der ikke er normalt udviklede. For eksempel kan testiklerne ikke være faldet ned i pungen eller urinrørsåbningen kan befinde sig på undersiden af penis i stedet for på spidsen.

Selvom en kort anogenital afstand i sig selv ikke anses som en medicinsk lidelse, så hænger den

sammen med disse andre lidelser. Derfor kan man benytte den til at vurdere i hvor høj grad fosteret har været påvirket af en forstyrrelse af de mandlige kønshormoner under udviklingen og dermed forudsige dette individs reproduktive sundhed.

Styr på signalvejene

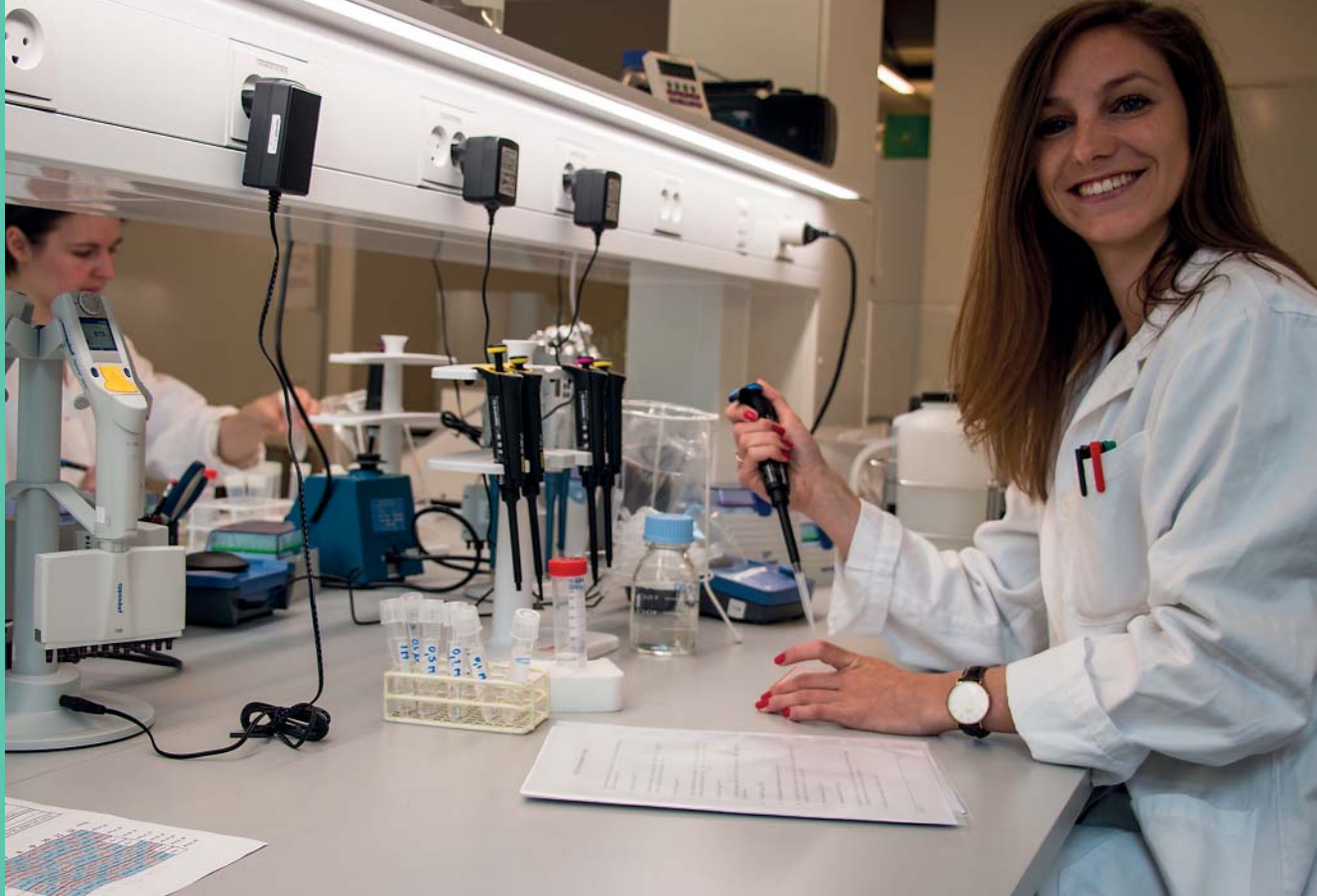
Vi ved altså, at et unormalt kort mellemkød på et drengebarn kan hænge sammen med forstyrrel-

ser af de mandlige kønshormoner i fostertilværelsen. Men vores forskning tyder på, at der også må være andre signalveje involveret. For eksempel har lægemidlet paracetamol, som anvendes til smertebehandling, vist sig at udøve samme effekt (dvs. reducere den anogenitale afstand) i forsøgsdyr, selvom stoffet tilsyneladende ikke er i stand til direkte at forstyrre de signalveje, som androgenerne er involveret i. Samtidig ved vi fra



**DET FRIE
FORSKNINGSRÅD**
DANISH COUNCIL
FOR INDEPENDENT
RESEARCH

Ph.d.-studerende Camilla Lindgren Schwartz i laboratoriet. Foto: Terje Svingen



forsøg med rotter, at mellemkødets længde hos hunner også kan være påvirket af kemikalier. Således giver stoffet bisphenol A, der er et kemikalie der bruges i produktionen af polycarbonatplast og epoxyharpikser, en forkortet anogenital afstand hos begge køn. Omvendt har det kunstige hormon ethinyløstradiol

(der bruges i p-piller) mærkeligt nok vist sig at have den omvendte effekt på hunner – altså at forlænge den anogenitale afstand – hvis de bliver udsat for stoffet i fostertilværelsen. Ud fra vores nuværende viden om udviklingen af mellemkødet, har vi ingen gode forklaringer på, hvordan disse uventede effekter opstår,

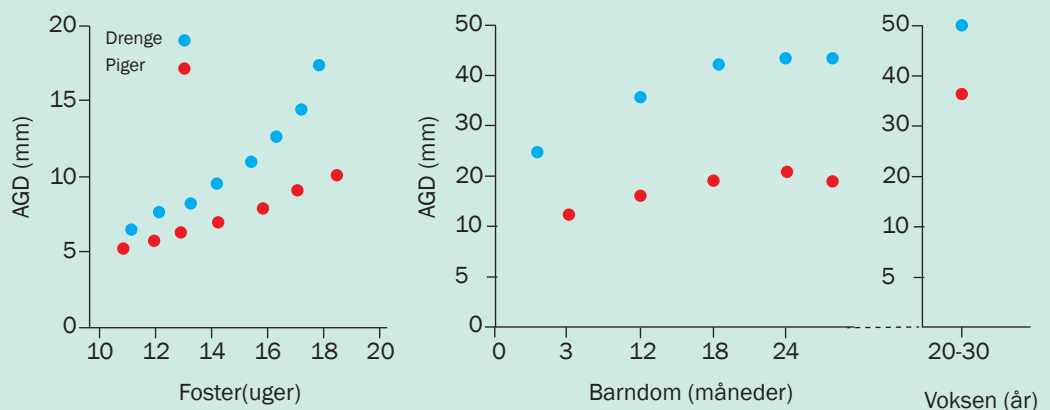
men de peger i retning af andre virkningsmekanismer end klassisk testosteron-signalering.

Der er derfor behov for at karakterisere disse signalveje bedre for at afsløre, hvordan de påvirker udviklingen af mellemkødet. Og det er vi nu i fuld gang med.

Projektet omtalt i artiklen er et såkaldt DFF-forskningsprojekt 1 fra Det Frie Forskningsråd | Natur og univers. Læs hvilke projekter, der har fået støtte på DFF's hjemmeside: detfrieforskningsraad.dk

DET FRIE FORSKNINGSRÅD
 DANISH COUNCIL FOR INDEPENDENT RESEARCH

Udvikling i længden af mellemkødet



Figuren illustrerer den normale udvikling af længden af mellemkødet (AGD = den anogenitale afstand) for piger og drenge i henholdsvis fostertilværelsen, i barndommen og som voksen.

Når man snakker om, at mellemkødet er "forkortet",

kan man ikke sige, at der findes en skarp grænse for, hvornår det er "for kort" i medicinsk forstand. Men studier har for eksempel påvist en statistisk sammenhæng mellem lav sæd kvalitet og en anogenital afstand mindre end 30 mm hos mænd. *Figur efter Dean & Sharpe (2013).*

Ned i detaljerne

I projektet vil vi bruge rotteforsøg til at belyse, hvilke faktorer der er vigtige for udviklingen af mellemkødet under fosterudviklingen. Vi vil i første omgang bruge et såkaldt microarray til at undersøge udtrykket af forskellige gener i det relevante væv fra henholdsvis normale hanrottefoster og hanrottefoster, der har kort anogenital afstand som følge af eksponering til forskellige kemikalier og lægemidler under fosterudviklingen. Ved brug af avancerede analyseprogrammer kan disse forsøg give os det helt store overblik over, hvad der sker på det molekylære niveau, hvor forskellige signaleringsveje bliver kortlagt, næsten som et kort over undergrundsbanen i London, bare meget mere kompliceret. Ved at sammenligne "kortene" fra de to grupper kan vi få indblik i, hvilke signalveje der påvirkes, når den anogenitale afstand er kort i hannerne. Efterfølgende vil vi så i langt større detalje analysere specifikke faktorer, der ser ud til at spille en central rolle. I denne fase vil vi kigge på specifikke proteiner,

og hvor de er udtrykt i de forskellige celler i mellemkødet. Derudover vil vi undersøge hormonniveauerne i blodet fra både moderen og fostrene under normale forhold og efter eksponering for at undersøge, om ændringer i disse niveauer stemmer overens med de ændringer, vi eventuelt finder på gen- og protein-niveau. Samlet set vil disse forsøg hjælpe os til at forstå, hvilke signalveje der er involverede, når den anogenitale afstand bliver kortere i hannerne, og hvilken rolle kønsormonerne spiller i denne proces.

Fra forsøgsdyr til cellelinjer

Da vi ved, at hormonforstyrrende stoffer kan påvirke anogenital afstand, og at dette er forbundet med en række skadelige effekter på det mandlige reproduktionssystem, er det en god ide at teste nye kemikalier for netop den effekt. Men at gøre dette i forsøgsdyr er i virkeligheden en langsommelig og ressourcekrævende proces – og desuden er brugen af forsøgsdyr altid forbundet med et etisk dilemma. Derfor vil vi gerne udvikle biologiske

screeningsmetoder til test af kemikaliers hormonforstyrrende effekt, der er baseret på humane celler og væv i stedet for forsøgsdyr. Man kan sige, at vi nu er ved at etablere den basisviden, der skal gøre dette muligt.

På den måde vil en dybere forståelse af mekanismerne involveret i udviklingen af mellemkødet også kunne medvirke til markant at reducere brugen af forsøgsdyr til at teste hormonforstyrrende stoffer. På længere sigt vil denne viden også kunne bruges til at udvikle nye computerbaserede forudsigelsesmodeller beregnet til risikolanalyse af nye kemikalier eller lægemidler.

Alt sammen vil det bidrage til, at vi kan forbedre vores beredskab til at forebygge skadelige virkninger af hormonforstyrrende stoffer og dermed få vendt den uheldige tendens med flere og flere drengebørn, der er født med misdannede kønsorganer og flere og flere mænd, der har svært ved at få børn. ■

Videre læsning

Læs mere om hormonforstyrrende stoffer i *Aktuel Naturvidenskab: Kønsforvirring*; *Aktuel Naturvidenskab* nr. 3/2013.

Fisk på p-piller. *Aktuel Naturvidenskab* nr. 5/2007

Dean, A. & Sharpe, R.M. (2013): Anogenital Distance or Digit Length Ratio as Measures of Fetal Androgen Exposure: Relationship to Male Reproductive Development and Its Disorders. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(6):2230–2238.

Naturvidenskab på Roskilde Universitet

NAT-DAG onsdag d. 27. september 2017

En dag med naturvidenskab på RUC
for gymnasier, HF og HTX

Læs mere på nat-dag.ruc.dk