

REDIGERET AF UFFE MIDTGÅRD,
LEIF SIMONSEN OG LISBETH E. KNUDSEN

BASISBOG

TOKSIKOLOGI I ARBEJDSMILJØET

BIND I



REDIGERET AF UFFE MIDTGÅRD,
LEIF SIMONSEN OG LISBETH E. KNUDSEN

BASISBOG

TOKSIKOLOGI I ARBEJDSMILJØET

BIND I

ARBEJDSMILJØINSTITUTTET
KØBENHAVN 1999

Basisbog: Toksikologi i
arbejdsmiljøet
bind I
Redaktion: Uffe Midtgård,
Leif Simonsen og Lisbeth E.
Knudsen

Grafisk tilrettelægning
og tegninger: art Grafik
Omslag: art Grafik
Tryk: Repro & Tryk A/S

ISBN: 87-7904-030-6
København 1999

Arbejdsmiljøinstituttet
Lersø Parkallé 105
2100 København Ø

Tlf. (+45) 3916 5200
Fax: (+45) 3916 5201
e-post: ami@ami.dk
hjemmeside: www.ami.dk

Arbejdsmiljøinstituttet (AMI) har udgivet basisbøger inden for områderne metodeevaluering og kvalitetsstyring, arbejdsmedicin, arbejdsfysiologi, teknisk arbejdshygiejne og risikovurdering. Med det foreliggende tobindsværk har AMI suppleret denne basisbogserie med en lærebog om toksikologi i arbejdsmiljøet, og umiddelbart herefter følger et værk om kemikalier og produkter i arbejdsmiljøet.

I AMI's første basisbog i arbejdsmedicin indgik der også kapitler om effekter af kemiske stoffer som beskrivelse af risikofaktorer i arbejdsmiljøet. Da dette værk efterhånden er mere end 15 år gammelt, har vi fundet det på sin plads at udgive et selvstændigt værk om toksikologi.

Som nævnt i indledningen er arbejdsmiljøtoksikologi et meget bredt felt med berøringsflader til mange andre discipliner inden for sundhed og arbejdsmiljø. De medtagne emner er udvalgt efter en indledende høringsrunde både blandt specialister inden for feltet og blandt brugere af AMI's publikationer. Dette betyder, at der er kapitler, som ikke direkte er omfattet af den klassiske toksikologi, men snarere er eksempler på anvendt toksikologi.

Indholdsmæssigt ligger værket tæt op ad basisbog i arbejdsmedicin, og et vist overlap mellem de to værker har ikke kunnet undgås. I flere tilfælde vil man endvidere bemærke, at der i udstrakt grad er henvist til basisbogen i arbejdsmedicin.

Målgruppen for basisbogen er den brede gruppe af arbejdsmiljøprofessionelle, som i forbindelse med deres arbejde har brug for et dansk opslagsværk som en første indgang til toksikologi og vurdering af mulige toksiske effekter.

Det er endvidere vores håb, at udvalgte kapitler kan tjene som undervisningsmateriale i forbindelse med kurser inden for toksikologi og beslægtede områder.

Kapitlerne er forfattet af specialister fra en række forskningsinstitutioner, universiteter, myndigheder, arbejdsmedicinske klinikker og private firmaer samt fra AMI's egen medarbejderstab. Redaktionsgruppen skal hermed benytte lejligheden til at takke alle bidragyderne for deres indsats i skrivefasen og den store tålmodighed, de har udvist i redaktions- og layoutfasen. Uden deres velvilje var værket næppe blevet til.

Redaktionsgruppen

Uffe Midtgård Leif Simonsen Lisbeth E. Knudsen¹
Arbejdsmiljøinstituttet, København

¹ Nu ansat i Lægemiddelstyrelsen

Toksikologi i arbejdsmiljøet - Bind I omfatter toksikologiske grundprincipper og mekanismer samt metoder til undersøgelse af toksiske effekter. Derudover indgår der kapitler om individuel følsomhed, biomarkører, toksikologi i relation til grænseværdier, samt en oversigt over håndbogslitteratur, videncentre og databaser omhandlende toksikologi.

Kapitel 1	Toksikologi - fra forgiftningskunst til videnskab	10
	11 Historiske aspekter	
	12 Toksikologi i dag	
	13 Toksikologi i arbejdsmiljømæssig sammenhæng	
Kapitel 2	Toksikologiske grundprincipper og -begreber	16
	16 Toksikodynamik	
	25 Toksikokinetik	
	66 Litteratur	
Kapitel 3	Dyreforsøg	68
	69 Ekstrapolation fra dyr til mennesker	
	71 Dyreetiske hensyn	
	72 Dyremodeller	
	80 Toksikologiske undersøgelser	
	90 OECD-guidelines	
	92 GLP	
	93 ECVAM	
	94 Forsøgsdyrs anvendelse i risikovurderingen	
	96 Udviklingstendenser	
	97 Litteratur	
Kapitel 4	In vitro forsøg	102
	108 Fysisk-kemiske metoder	
	110 Tests for almene giftvirkninger på celler	
	117 Tests med væv og organer	
	119 Tests med rekonstrueret humant væv	
	121 Udviklingstendenser	
	124 Litteratur	
Kapitel 5	Analytisk epidemiologi	128
	129 Basale begreber	
	131 Risikofaktorer og effektmodifikation	
	133 Konfoundere	
	144 Et eksempel fra det virkelige liv	
	154 Litteratur	

Kapitel 6	Biomarkører og biologisk monitorering	156
	157 Intern dosis	
	158 Klassifikation af biomarkører	
	169 Prøvetagning	
	173 Analysemetoder	
	174 Tolkning af data	
	180 Anvendelsesmuligheder	
	182 Ethiske overvejelser	
	184 Udviklingstendenser	
	186 Litteratur	
Kapitel 7	Individuel følsomhed	190
	192 Typer af markører for følsomhed	
	200 Metoder til genetisk screening	
	201 Anvendelse	
	205 Udviklingstendenser	
	209 Litteratur	
Kapitel 8	Grænseværdier og grænseværdifastsættelse	212
	212 Historie	
	216 Definition af grænseværdi	
	217 Forskellige former for grænseværdier	
	218 Fastsættelse af grænseværdier i Danmark	
	222 Grænseværdier i EU	
	243 Udviklingstendenser	
	245 Litteratur	
Kapitel 9	Toksikologisk litteratur, databaser og videncentre	248
	249 Datasøgning	
	250 Datakilder	
	251 Databaser	
	255 Databaseværter	
	256 Internet	
	259 Videncentre	
	261 Anneks 1	
	266 Anneks 2	
	268 Anneks 3	
	270 Stikordsregister - bind I-II	

BIND II

Bind II omfatter hovedeffektområderne genotoksikologi, kræft, reproduktionstoksikologi, immuntoksikologi, allergi, neurotoksikologi samt hormoner og stress.

- Kapitel 1 Professor, dr.med.
Jens S. Schou
Institut for Farmakologi og
Toksikologi
Panum Institutet
- Kapitel 2 Lektor, cand.scient
Sven Edelfors
Farmakologisk Institut
Panum Institutet
og
Lektor, cand.pharm.
Andree Ravn-Jonsen
Farmakologisk Institut
Panum Institutet
- Kapitel 3 Sektionsleder, dyrlæge
Otto Meyer
Institut for Fødevare-
sikkerhed og Toksikologi
Veterinær- og Fødevare-
direktoratet
og
Afdelingsforstander, dyrlæge
Ph.D.
Jens-Jørgen Larsen
Afdeling for almen
Toksikologi
Veterinær- og
Fødevaredirektoratet
- Kapitel 4 Toksikolog, cand.scient.,
Ph.D.
Eva Selzer Rasmussen
Institut for
Fødevaresikkerhed og
Toksikologi
Veterinær- og
Fødevaredirektoratet
- Kapitel 5 Seniorforsker, cand.odont.
Poul Suadicani
Arbejds- og Miljømedicinsk
Klinik
Bispebjerg Hospital
- Kapitel 6 Forskningsleder, cand.scient.
et dr.med.
Jytte Molin Christensen,
Forsker, cand.scient., Ph.D.
Anne Helene Garde,
Seniorforsker, cand.pharm.,
Ph.D.
Åse Marie Hansen,
Seniorforsker, cand.scient.,
Ph.D.
Jesper Kristiansen,
Referencelaboratoriet
Arbejds miljøinstituttet
og
Seniorforsker, cand.scient.,
Ph.D.
Lisbeth E. Knudsen
Medicinsk Afdeling
Lægemiddelstyrelsen
- Kapitel 7 Seniorforsker, cand.scient.,
Ph.D.
Lisbeth E. Knudsen
Medicinsk Afdeling
Lægemiddelstyrelsen,
Forsker cand.scient.
Lotte Risom
Afd. for Miljø- og
Arbejdsmedicin
Institut for
Folkesundhedsvidenskab
og
Forsker, cand.scient., Ph.D.
Ulla B. Vogel
Afdeling for Kemisk
Arbejds miljø
Arbejds miljøinstituttet
- Kapitel 8 Dyrlæge, dr.med.vet.
A. Schaich Fries
Direktionssekretariatet
og
Seniorforsker, lic.scient.
Leif Simonsen
Afdeling for kemisk
Arbejds miljø
Arbejds miljøinstituttet

Kapitel 9 Seniorkonsulent, cand.scient.
Karl-Heinz Cöhr
Afdeling for
Forbrugertoksikologi
Dansk Toksikologi Center,
Bibliotekar, DB,
Elizabeth Bengtsen
Informationssekretariatet
Arbejds miljøinstituttet
og
Miljøbiolog, lic.scient.
Gunde E. Jensen,
Kontoret for Produktdata
Arbejdstilsynet

KAPITEL 1

**Toksikologi
- fra forgiftnings-
kunst
til videnskab**

Jens S. Schou

Toksikologi - fra forgiftningskunst til videnskab

Toksikologi er læren om kemiske skadevirkninger på levende organismer, i denne sammenhæng på mennesket. Navnet toksikologi er afledt af toksin = gift, og toksikologien kan således for-danskes til giftlære. Begreber som miljøtoksikologi og økonomisk toksikologi (anvendelsen af gifte til at opnå produktionsmæssige forbedringer, som det kendes med bekæmpelsesmidler) ligger uden for formålet med denne fremstilling, ud over de skadelige påvirkninger og risici, som direkte eller indirekte kan nå mennesket fra disse områder gennem føde eller anvendelse.

Ved giftlære forstår men i dag først og fremmest den klassiske toksikologi, som væsentligst beskæftigede sig med akutte forgiftninger, deres opståen og forløb, symptomer, diagnose og behandling på grundlag af kendskab til deres mekanisme for giftvirkningen.

I dag vil man karakterisere toksikologien som den videnskab, der gør rede for opståelsesmåde og mekanisme for kemiske skadevirkninger, såvel akutte som senere opstående, og på basis af denne viden vurderer risikoen for skadevirkninger ved såvel fremstilling som anvendelse af kemiske produkter. Den toksikologiske risikovurdering eller sikkerhedsvurdering baserer sig primært på den viden, der kan opnås fra modelsystemer inklusive forsøgsdyr, og er stærkt specialiseret inden for forskellige produktområder og eksponeringssituationer. Den forebyggende toksikologi eller sikkerhedstoksikologien er yderligere specialiseret inden for forskellige produktområder, såsom levnedsmidler, husholdningsartikler, kosmetik, bekæmpelsesmidler, lægemidler og kemikalier i almindelighed, idet hvert område er reguleret gennem speciel lovgivning mht beskyttelse af mennesket både ved erhvervmæssig og brugermæssig eksponering.

Historiske aspekter

Giftlæren, som i dag vel nærmest svarer til klinisk toksikologi, omfattende diagnose og behandling af akutte forgiftninger, har en historie så lang som lægemiddellæren, for ikke at sige så lang som menneskets historie. Vore tidligste forfædre, det primitive menneske, måtte vælge de spiselige naturprodukter, planter, fisk og pattedyr, på basis af erfaringer opnået med skadevirkninger, når de indtog de farlige emner. Ved overlevering sikrede man, at den opnåede viden kom kommende generationer til gode. Men parallelt udviklede der sig også en tro på, at det, der i større mængder var skadeligt, kunne anvendes i mindre, ikke skadelige mængder (doser) til at modvirke sygdomme, der betragtedes som besættelse.

Lægegeringen fra den tidligste historiske tid, fra hvilken overleveringer eksisterer, anvender da også naturprodukter til behandling af sygdomme. Ebers' Papyrus, der blev fundet i en grav i Thebes i 1862, repræsenterer den ældste kendte tekst om lægeplanter og andre drogers anvendelse ved beskrevne lidelser. Denne velbevarede tekst, som dateres til omkring 1500 f.Kr., indeholder ca 900 "recepter" med angivelse af deres anvendelse ved sygdomsbehandling. Mange midler gjorde uden tvivl mere skade end gavn og hører i dag mere hjemme i toksikologien. Men man finder da også droger som ricinusolie (amerikansk olie), der den dag i dag - som for ca 3500 år siden - benyttes som afføringsmiddel.

Mens tidlige kulturer således beskæftigede sig med anvendelsen af naturprodukter som lægemidler, blev man også tidligt opmærksom på de muligheder, giftvirkningerne tilbød.

I Ægypten var bid af giftslanger et kendt henrettelses- og selvmordsmiddel, og skarntydesaft blev anvendt til disse formål i oldtidens Grækenland. Sokrates blev henrettet med skarntydesaft, Conium maculatum, og Platon nedskrev hans beretning om, hvordan han oplevede giftvirkningen med fremadskridende følelseløshed og lammelse i benene, stigende opad i bugmuskulaturen for at nå brystkasse med respirationslammelse og hjertestop til følge. Dette er den første kendte beretning om den tidsmæssige fremadskriden af en dødeligt forløbende forgiftning. På lignende måde kan vi i dag beskrive de fleste akutte forgiftningers symptomatologi og forløb, dels baseret på observationer i dyreforsøg, dels på grundlag af kliniske forgiftningserfaringer.

Forgiftnings"kunsten" blev forfinet i Romeriget, hvor gifte i høj grad infiltrerede det politiske liv. Foruden plante- og dyregifte blev nu også mineralske gifte taget i anvendelse. Det hævdes således, at Grippus skilte sig af med Claudius med arsenik for at

sikre Nero kejsertitlen i Rom. Nero var lærenem og anvendte samme gift til Claudius' søn Britannicus, og måtte skynde sig at få liget begravet for at andre ikke skulle se de karakteristiske lillasorte ligpletter, idet han hævdede, at døden skyldtes et epileptisk anfald. I middelalderens Italien viste kvinder også stor interesse ikke blot for anvendelsen af gifte, men også for de dertil knyttede biologiske faktorer. Catherina af Medici i Florens gav måltider til syge og fattige og tilsatte gifte for at notere sig symptomerne, varigheden før de opstod (latenstiden) samt den tidsmæssige følge for deres opståen, karakter og voldsomhed i relation til dosis, og endelig den dødelige dosis' størrelse. I Frankrig fulgte man også godt med, og under Ludvig XIV, "solkongen", blev Catharine Deshayes henrettet efter at være fundet skyldig i over 2.000 spædbørns og adskillige mødres død under hendes foregivende af at ville hjælpe dem til abort.

Toksikologi i dag

I lyset af disse barske beretninger har toksikologien i dag et utroligt fredeligt sigte, som udtrykkes godt af ordet safety toxicology, sikkerhedstoksikologi. Der er mange udtryk i denne forbindelse, såsom profylaktisk, præventiv eller forebyggende toksikologi, idet man anvender de videnskabelige metoder til at forebygge uønskede effekter ved menneskers fremstilling og anvendelse af samt arbejde med kemiske stoffer og produkter. Denne moderne toksikologi opstod som følge af den kemiske industris fødsel omkring midten af forrige århundrede, men blomstrede først rigtig op med den syntetiske kemi's eksplosion for et halvt århundrede siden. Det blev nødvendigt at karakterisere de store mængder af nye kemiske stoffer dels mht biologiske egenskaber, dels mhp anvendelsesmuligheder, men i denne forbindelse ikke mindst klagøre deres potentielle risici. Her måtte man erkende visdommen i Paracelsus'* ord: Alle stoffer er gifte, intet er uden giftvirkning, det er kun dosis, der gør en ting ugiftig. Denne evige sandhed demonstreres simplest, ved at det livsnødvendige natriumchlorid kan føre til en dødeligt forløbende forgiftning ved indtagelse af en mættet saltopløsning, hvilket der findes sørgelige eksempler på.

Sikkerhedstoksikologien blev først udviklet mhp at sikre mod uønskede virkninger ved levnedsmidler og lægemidler. Men der skulle en katastrofe til for rigtig at sætte fokus på nødvendigheden af forfinede, prædiktive metoder. Det var den såkaldte Thalidomidkatastrofe, der fandt sted omkring 1960, da et nyfrem-

* Philip Theophrastus Bombastus von Hohenheim (1493-1541); schweizisk læge og filosof.

stillet lægemiddel, som i øvrigt var et fremragende selektivt virkende sovemiddel, viste sig at medføre svære skadevirkninger på fosteret hos gravide kvinder, som fik midlet i svangerskabets tidligste fase omkring 5.-6. svangerskabsuge.

Dette førte til en eksplosionsmæssig indsats for at finde dyrekperimentelle metoder til at påvise sådanne effekter, mhp at hindre tilsvarende katastrofer i at opstå i fremtiden. Man måtte også erkende at toksikologien i vid udstrækning var deskriptiv, idet der blev undersøgt for de toksiske effekter, man kendte, men man var tilbøjelig til at overse ukendte mekanismer og deraf følgende skader. Det er derfor vigtigt, at toksikologien i dag går i retning af at klarlægge toksikologiske mekanismer, mekanistisk toksikologi, som det vil fremgå af de videre kapitler. Endelig skal det understreges, at der sker en rivende udvikling i udarbejdelsen af nye metoder, baseret på videnskabens tilførsel af ny viden om mekanistisk toksikologi.

Den eksperimentelle toksikologi har været et af de områder, som har været stærkt i søgelyset mht den humane opfattelse af anvendelsen af forsøgsdyr. Den klassiske test for bestemmelse af akut giftighed har i mange år været LD₅₀, bestemmelse af den dosis, der medførte døden hos 50% af en forsøgsdyrspopulation. Dette medførte et urimeligt forbrug af forsøgsdyr for at opnå en så sikker bestemmelse som muligt, samtidig med at den eneste observation på det enkelte dyr gik ud, på om det overlevede eller døde af en bestemt dosis af teststoffet. Det er derfor vigtigt, at man tænker i forsøgsdyretiske baner i forbindelse med de toksikologiske undersøgelser, samtidig med at man bør indskrænke anvendelsen af forsøgsdyr mest muligt. Dette kan ske ved at anvende in vitro metoder i den udstrækning, som de kan give svar på de afgørende spørgsmål. Hele det forsøgsdyrsetiske koncept repræsenteres af "De tre RRR" mht forsøgsdyrs anvendelse: "Replace with in vitro methods when possible, Reduce the number of experimental animals used to the acceptable minimum, Refine the methods to decrease exposure and suffering." Dette bør tilstræbes i al toksikologi, uden at det naturligvis må gå ud over sikkerheden.

Toksikologi i arbejdsmiljømæssig sammenhæng

Toksikologien, eller som den er benævnt ovenfor: Sikkerhedstoksikologien, indgår på mange forskellige måder som et vigtigt

element i forebyggelsen af uønskede effekter som følge af udsættelse for kemiske stoffer og produkter i arbejdslivet. På overordnet niveau sikres dette primært gennem etablering af grænseværdier og klassificering og mærkning af kemiske stoffer og produkter - områder som begge er baseret på farlighedsvurderinger ud fra bl.a. den toksikologiske viden om de pågældende stoffer. Sammen med stofvurderinger, udredning af helbreds-effekter relateret til kemiske eksponeringer, arbejdspladsvurderinger (APV) og almindelig rådgivning er dette de væsentligste dagligdags anvendelser af toksikologien inden for arbejdsmiljøområdet.

Selvom akutte forgiftninger stadig optræder i erhvervsmæssig sammenhæng, er det takket være den øgede viden og forebyggende indsats et aftagende fænomen. Udviklingen har bevirket, at der kommer mere og mere fokus på effekter som følge af langvarig udsættelse for lave koncentrationer af stoffer og komplekse eksponeringer, herunder samspil mellem kemiske og fysiske påvirkninger. Samtidig med at interessen for lav-dosis effekter er øget, har det medført, at viden omkring fx individuelle forskelle i følsomhed, specielt udsatte grupper og effekter i indeklima er blevet relevante. Ved eksponeringsvurderinger er man også blevet opmærksom på samvirkning, interaktion, mellem påvirkning i arbejdsmiljø og eksternt miljø. Disse forhold har bevirket, at toksikologien i arbejdsmiljømæssig henseende har bredt sig ud eller har affødt nye emner og interesseområder, som man måske rent konceptuelt ikke ville inkludere i toksikologien. Endelig skal det bemærkes, at toksikologien, som det afspejles i dette værk, har berøringsflader med beslægtede fagområder som arbejdspsykiatri, arbejdsmedicin og risikovurdering.

KAPITEL 2

Toksikologiske grundprincipper og -begreber

*Sven Edelfors
Andree Ravn-Jonsen*

Toksikologiske grundprincipper og -begreber

Fremmedstoffer fremkalder kun uønskede eller toksiske virkninger på et biologisk system, hvis stofferne eller deres nedbrydningsprodukter når påvirkelige områder i organismen i en koncentration og i et tidsrum, der er tilstrækkeligt til at fremkalde en toksisk reaktion. Den gren af toksikologien, der beskæftiger sig med de mekanismer, der ligger til grund for stoffers toksiske egenskaber, kaldes toksikodynamik, eller beskrivelsen af de virkninger, et stof har på organismen.

Toksikodynamik

Eksponeringsbegrebet

Eksponeringen deles normalt op i fire kategorier: akut, subakut, subkronisk og kronisk eksposering. Akut eksposering vil normalt ske inden for kort tid, oftest timer eller minutter, og med én eller kun få eksposeringer. Subakut eksposering defineres som eksposering af mindre end en måneders varighed, subkronisk op til tre måneders varighed og kronisk mere end tre måneders eksposering. Inddelingen af eksposeringsvarigheden i fire kategorier er administrativ og regulatorisk, men ikke toksikologisk begrundet.

Akut eksposering

Den toksiske reaktion under eller efter en akut eksposering adskiller sig fra de andre eksposeringsformer, ved at reaktionen normalt ses, mens stoffet er til stede i organismen, og klinger af i

takt med, at stoffet nedbrydes eller udskilles. Der er altså tale om en såkaldt reversibel toksisk reaktion. En massiv akut eksponering kan dog også give anledning til kroniske skader. Ved massiv eksponering for kulilte vil den akutte effekt være bevidstløshed, men senere indtræder vedvarende skader i hjernen pga den indtrådte iltmangel. Der er her tale om en irreversibel toksisk reaktion.

Subakut, subkronisk og kronisk eksponering

Ved subakut, subkronisk og kronisk eksponering kan der ske en akkumulation (ophobning) af det toksiske stof, fordi nedbrydnings- og udskilleleshastigheden er lavere end optagelseshastigheden, så der ud over en eventuel akut virkning kan fremkaldes andre og varige skader. Kroniske skader kan skyldes enten ophobning (akkumulation) af det pågældende stof eller ændringer i vævets strukturer eller funktioner fremkaldt under eksponeringen med stoffet. Cadmiums toksiske effekt på nyrerne skyldes akkumulationen af cadmium i nyrevævet. Da cadmiums halveringstid i organismen er anslået til ca 40 år, vil selv kort tids eksponering kunne medføre skader gennem hele livet. Strukturelle ændringer, som medfører varige skader på lungevævet, ses efter eksponering for mineralfibre (silicose og støvlunge). Kroniske skader kan også opstå, hvis organismens normale "reparationssystemer" ikke kan følge med, fx hvis organismen udsættes for stoffer, der beskadiger DNA-molekylerne og dermed medfører risiko for udvikling af kræft.

Eksponeringsveje

De vigtigste eksponeringsveje for fremmedstoffer er lungerne (pulmonal), mave-tarmkanalen (peroral) og huden (dermal). Hurtigheden, hvormed en akut effekt indtræder, sker oftest i den angivne rækkefølge.

I erhvervsmæssig sammenhæng er pulmonal og dermal eksponering vigtigst, mens peroral eksponering stort set kun ses ved ulykker, selvmord og dårlig hygiejne. Effekten på organismen afhænger ligeledes af eksponeringsvejen. Ved peroral indtagelse vil leveren ofte nedbryde en del af den indtagne dosis, inden den når de områder, hvor den toksiske reaktion udspiller sig.

Optagelsen af fremmedstoffer i organismen via de forskellige eksponeringsveje vil blive behandlet mere indgående i et senere afsnit.

Virkningssted

Lokal effekt

Hvis et stof skal kunne fremkalde en lokal effekt, må det kunne

overskride den beskyttende barriere, der udgøres af hud eller slimhinde, enten ved diffusion eller ved at ødelægge barrieren. Den intakte hud er modstandsdygtig over for en lang række stoffer, der ville ødelægge en slimhinde. Dyppes en finger i ammoniakvand, sker der ingenting, men hvis ammoniakvandet drikkes, vil resultatet være alvorlige skader på slimhinderne i svælget. Indåndes nitro-se gasser, kan der opstå lungeødem. Det må betegnes som en lokal effekt, men ødemet kan være dødeligt.

Systemisk effekt, organspecificitet

I langt de fleste tilfælde skal stofferne optages, før deres virkning ses. Denne virkning kan være systemisk, dvs hele organismen påvirkes, det er fx tilfældet ved indånding af kulilte, hvor hele organismen lider under den efterfølgende iltmangel, eller ved en cyanidforgiftning, hvor alle cellers evne til at udnytte ilt stoppes. Virkningen kan også være organspecifik, dvs knyttet til et enkelt organ, som det ses efter eksponering med cadmium, hvor nyrerne er mål for den toksiske effekt, eller efter indtagelse af metanol, hvor synsnerven rammes med deraf følgende blindhed. Organspecificiteten behøver ikke nødvendigvis at være forårsaget af stoffets opkoncentrering i organet, selv kortvarig iltmangel giver hjerneskader, fordi centralnervesystemet er ekstremt følsomt for mangel på ilt. Man skal også være opmærksom på, at virkningssted og deponeringssted ofte er forskellige. Organiske opløsningsmidler opkoncentreres (deponeres) i fedtvæv, men virkningsstedet er nervesystemet, bly deponeres i knoglevæv, men det er nyrer, nervesystem og bloddannende organer, der påvirkes.

Selektiv toksicitet

Ved selektiv toksicitet forstås, at et stof er mere toksisk for én type organisme end for en anden. Emnet ligger uden for denne bogs rammer, men ved vurderingen af undersøgelser, der skal bruges til godkendelsen af et stof, skal man være opmærksom på, at selv blandt pattedyr findes eksempler på selektiv toksicitet.

Struktur-aktivitet (QSAR)

Ved at sammenligne et stofs kemiske struktur med et andet stofs, hvis virkning på organismen kendes, kan man undertiden forudsige stoffets virkning. Sådanne overvejelser indgår i myndighedernes vurderinger af nye stoffers toksiske egenskaber. Man skal dog være yderst forsigtig med at drage forhastede slutninger pga ligheder i den kemiske struktur. Der kendes eksempler fra lægevidenskaben, hvor to nært beslægtede stoffer har meget forskel-

lig virkning. Allergimidlet prometazin og schizofrenimidlet chlorpromazin afviger stort set kun ved tilstedeværelsen af et chloratom, og morfins struktur er næsten identisk med strukturen af morfinmodgiften naloxon, der fuldstændig ophæver morfins virkning.

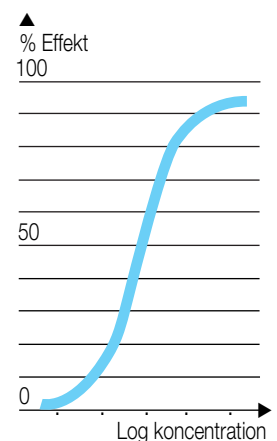
Dosis-effekt relationen

Receptorer

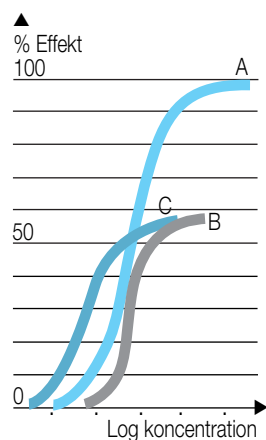
De fleste stoffer udøver deres effekt på et biologisk system ved at bindes til bestemte molekyler eller molekylegrupper. Disse benævnes receptorer og vil som regel være knyttet til afgrænsede områder af cellemembranen eller cellekernen. Beror et stofs virkning på bindingen til en receptor, betyder det, at stoffets tredimensionelle struktur passer ind i et tilsvarende område ved receptoren ligesom puslespilbrikker. Et stof, der virker på denne måde, kaldes en agonist. Visse stoffer virker dog alene ved deres kemiske reaktivitet, fx ætsgifte, og ikke via en receptor. Når en agonist bindes til en receptor, sker det vha de sædvanlige kemiske bindinger. Svage bindinger er lette at bryde og vil derfor give reversible effekter, mens stærke bindinger ikke kan brydes og derfor giver irreversible effekter. Jo flere receptorer, der bindes, jo kraftigere effekt, men modsat betyder det også, at når alle receptorer er bundet, kan reaktionen ikke blive kraftigere. Det er vigtigt her at gøre opmærksom på, at receptorundersøgelser altid foregår med simple systemer og derfor ikke nødvendigvis siger noget om et stofs effekt på organismen som helhed. Undersøgelserne er dog vigtige, fordi de afslører et stofs virkningsmekanisme og ikke mindst kan vise, hvorledes man kan ophæve et stofs virkning. Et stofs virkning på hele organismen er således summen af virkningen på organismens receptorer.

Afbildes stof-receptor effekten som funktion af logaritmen til stofkoncentrationen, fås en S-formet kurve (fig. 2.1). Kurvens placering på x-aksen viser, om der skal lidt eller meget af et stof til at fremkalde en given effekt. Højden i forhold til y-aksen viser, hvor kraftig en effekt der kan opnås med det pågældende stof, og kurvens hældning viser, hvor meget stof der skal til for at fremkalde en stigning i effekten. Den kraftigste effekt, der kan opnås med et stof, kaldes stoffets maksimaleffekt. Hældningen på kurven udtrykker stoffets affinitet, dvs dets evne til at bindes til receptoren. Kurvens placering på x-aksen bruges, hvis man ønsker at sammenligne to eller flere stoffers evne til at fremkalde en given effekt, hvilket kaldes stoffets potens. Forskydes kurven mod højre, skal der bruges mere af et stof, forskydes kurven til venstre, skal der bruges mindre. Fig. 2.2 viser kurveforløbet for

Figur 2.1. Log dosis-effekt kurve.



Figur 2.2. Log dosis-effekt kurver for stofferne A, B og C.



tre stoffers effekt på en given receptor. Stof A har den største maksimaleffekt, stof B den største affinitet og stof C den højeste potens.

Agonist/antagonist

Tilføres receptoren et stof med større affinitet til denne end agonistens, kan det pågældende stof fortrænge en allerede bundet agonist fra receptoren. Et stof med denne egenskab kaldes en antagonist. Morfinmodgiften naloxon er en sådan antagonist. Antagonistens binding til receptoren kan i lighed med agonistens binding være både reversibel og irreversibel. I receptorterminologien kaldes den reversible binding kompetitiv, og den irreversible binding kaldes nonkompetitiv. Flere forgiftningsbehandlinger bygger på agonist/antagonist princippet. Når kulmonoxidforgiftningen behandles med ilt, er det, fordi ilt og kulmonoxid konkurrerer om bindingen til hæmoglobin, og når bladanforgiftningen behandles med atropin, er det, fordi atropin fortrænger acetylcholin fra receptorerne i centralnervesystemet.

LD₅₀

Til at vurdere stoffers giftighed har man hidtil bestemt, hvor stor en akut dosis der skal indgives til en gruppe dyr, for at halvdelen af dyregruppen dør, den såkaldte LD₅₀ (letal dosis, 50%). Bestemmelsen anses af mange for at være uetisk, da den er behæftet med store fejl og kræver mange forsøgsdyr. Man er derfor i stigende grad gået over til at anvende det såkaldte "fixed dose" system, hvor man med få dyr pejer sig ind på en given effekt.

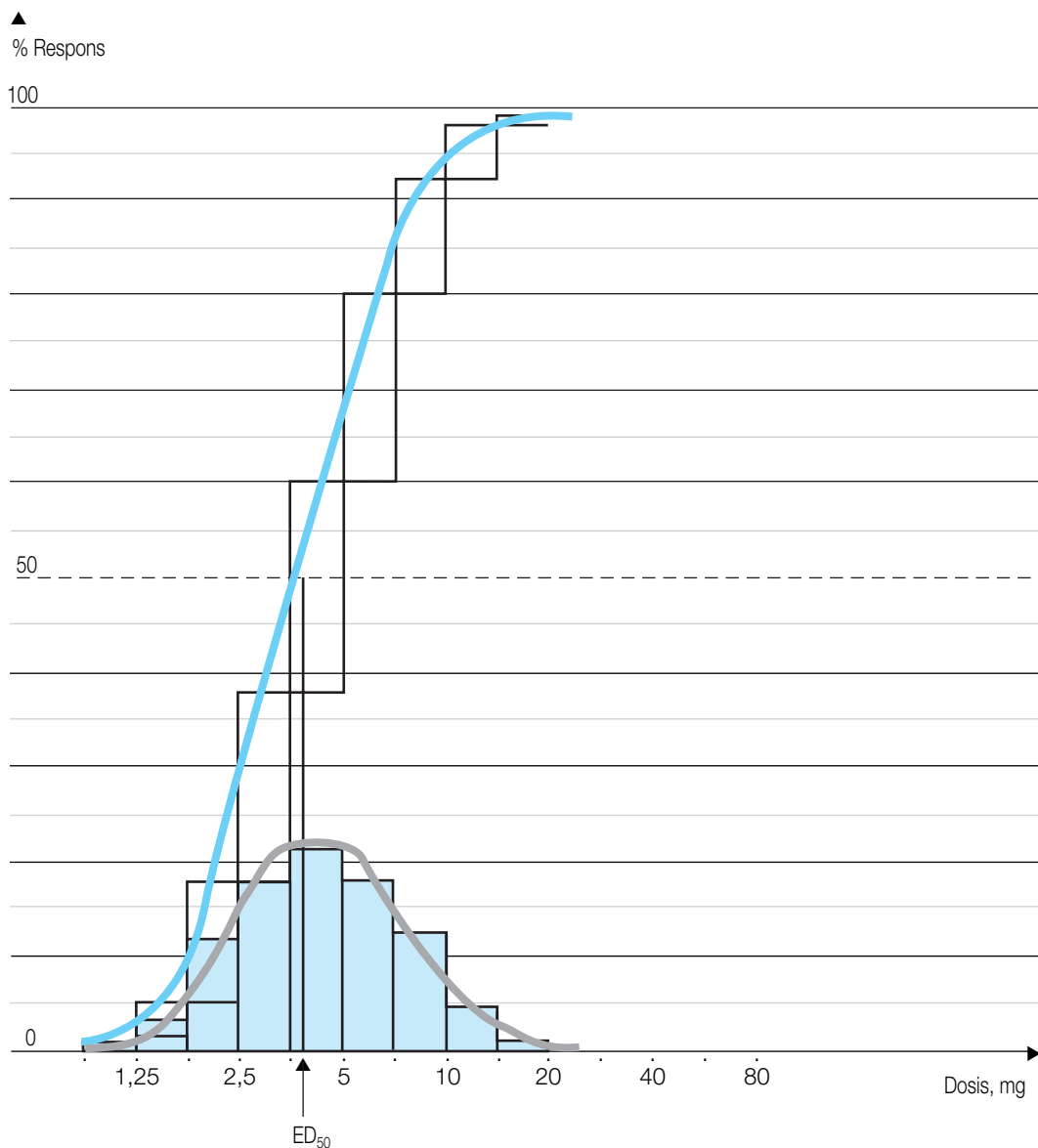
Tabel 2.1 viser, hvorledes stofferne grupperes efter deres akutte toksicitet udtrykt ved LD₅₀ eller LC₅₀ (den koncentration i indåndingsluften, der dræber 50% af gruppen).

Tabel 2.1. LD₅₀ for en række repræsentative stoffer.

Substans	LD ₅₀ mg/kg
Ethylalkohol	10.000
Natriumchlorid	4.000
Ferosulfat	1.500
Morfin	900
Nikotin	1
Dioxin	0,001
Butolinum toxin	0,00001

Dosis-respons relationen

I toksikologien er sammenhængen mellem den indgivne dosis af et givet stof og organismens reaktion på dosis, det såkaldte dosis-



respons forløb, mere relevant end dosis-effekt forløbet på en bestemt receptor. Ved dosis-respons fastlægges sammenhængen mellem dosis/eksponeringsniveau og den procentdel af en given population, der opnår det ønskede/uønskede respons. En lille del af populationen vil reagere allerede ved små doser, og ved stigende doser vil flere og flere individer reagere, indtil der nås et doseringsniveau, hvor alle individer reagerer. Angives den procentdel af individerne, der reagerer på en given dosis, som funktion af dosis, fås en Gauss fordelingskurve. Fordelingskurven udtrykker den biologiske variation i reaktionen på stoffet. Hvis man i stedet for afsætter det antal individer, der totalt reagerer på en given dosis, som funktion af log dosis, får man en S-formet kurve (fig. 2.3).

Figur 2.3. Dosis-respons kurve angivet som antal individer i %, der reagerer på en given dosis (farvede blokke), og det akkumulerede antal individer i %, der reagerer på en given dosis (åbne blokke).

Selvom kurven er ret på det midterste stykke, kan man ændre den til det såkaldte "probitsystem", hvor kurven er ret i hele forløbet. Probitberegningen tager sit udgangspunkt i den standardiserede normalfordeling, og de tilhørende probitværdier kan slås op i statistiske tabelværker. I tabel 2.2 er angivet procent individer, der reagerer på dosis, og den tilhørende probitværdi.

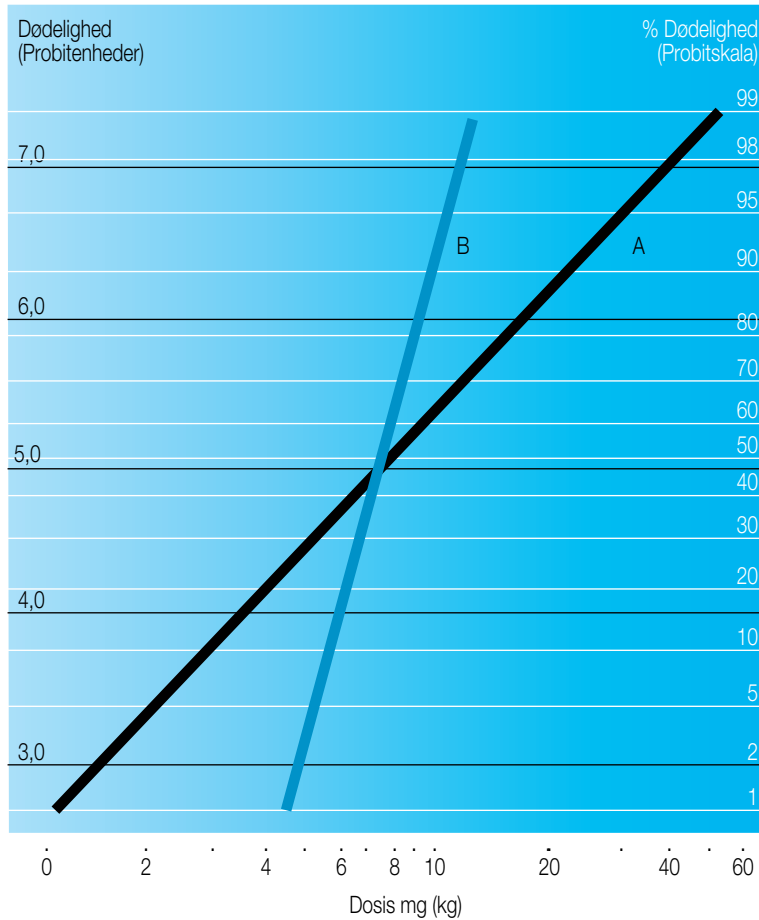
Procent	NED	Probit
0,1	-3	2
2,3	-2	3
15,9	-1	4
50,0	0	5
84,1	+1	6
97,7	+2	7
100,0	+3	8

Tabel 2.2. Sammenhængen mellem procent responderende individer, afvigelsen fra middelværdien (NED) og probitværdien.

Probitsystemet er mere praktisk anvendeligt end de S-formede kurver, når man skal sammenligne to stoffers toksicitet. I probitsystemet fås to rette linier, hvor hældningen angiver, hvor stor effekt der opnås ved en given ændring af dosis. Af fig. 2.4 fremgår det klart, at indtagelse af B er forbundet med større risiko end A, da en given ændring i respons kræver væsentlig mindre dosis. Af figuren ses, at LD_{50} er identisk for de to stoffer, nemlig 8 mg/kg, men ved 4 mg/kg reagerer mindre end 0,1% på B, mens ikke mindre end 20% reagerer på A.

Indgiver man mindre og mindre doser, vil respons til sidst forsvinde. Den største dosis, man kan give uden at fremkalde et respons, kaldes "no observed effect level" (NOEL), og tilsvarende kaldes den mindste dosis, der lige netop fremkalder et respons, undertiden "lowest observed effect level" (LOEL). I dag erstattes begreberne mere og mere af begreberne "no observed adverse effect level" (NOAEL) og "lowest observed adverse effect level" (LOAEL).

Er der tale om et muligt kræftfremkaldende stof, søger man at fastlægge en tærskelværdi. Det er ret kompliceret, da der ikke er tale om en direkte målelig værdi, men om resultatet af statistiske overvejelser, hvor man fastlægger, hvor stor risiko man vil acceptere, fx at højst én ud af en million får kræft ved udsættelse for stoffet.



Figur 2.4. Log dosis-respons kurver for stofferne A og B angivet i probitenheder.

Faktorer med indflydelse på stoffers toksicitet

Genetiske forhold

Det er velkendt, at der er forskel på forskellige dyrearters følsomhed over for samme stof, men der kan også være forskel mellem forskellige stammer inden for samme dyreart. Inden for forsøgsdyrsbranchen prøver man at løse problemet med bevidst indavl, for at mindske den genetiske variation.

Hos mennesket er den genetiske variation meget stor ikke

alene mellem enkeltindivider, men også mellem etniske grupper. Forskellen i alkoholnedbrydningen mellem orientalerne og kaukasierne er velkendt. Genetisk betinget mangel på enzymet glucose-6-phosphat-dehydrogenase kan medføre hæmolytisk anæmi hos ca 10% af den negroide race, hvis de behandles med malariamidlet primaquin, og som et kuriøst eksempel kan nævnes, at hos 50% af den jødiske befolkningsgruppe i Tyrkiet kan anæmien udløses ved overdreven indtagelse af hestebønner!

Tolerance

Ved tolerance forstås en tilstand, hvor et individ skal have tilført større og større doser af et stof for at opnå samme virkning. Tolerancen kan udvikles, ved at stoffet stimulerer sin egen nedbrydning eller ændrer receptorbindingen. Morfin er kendt for en kraftig toleranceudvikling.

Adaptation er en tolerance, der udvikles meget hurtigt, ofte i løbet af minutter. Adaptation udvikles hyppigt over for lugt, smag og slimhindeirritation. Adaptationen kan medføre, at man udsættes for toksiske koncentrationer uden at bemærke det. Man kan vænne sig til lugten af opløsningsmidler, svovlbrinte og ammoniak. Adaptationen forsvinder oftest lige så hurtigt, som den opstod.

Fysiologiske faktorer

Generelt er der ikke kønsforskelle i toksiske reaktioner. Hvis de to køn reagerer forskelligt, bundes det som regel i forskellig nedbrydningskapacitet eller forskelligt fedtindhold i de to køn.

Til gengæld betyder alderen meget. Fostres og nyfødtes organer er ikke færdigudviklede, og enhver toksisk påvirkning kan få katastrofale følger senere hen. Tidlig eksponering med bly og kviksølv er et glimrende eksempel herpå. Hos gamle vil lever- og nyrekapaciteten være nedsat, ligesom kropssammensætningen vil være anderledes.

Det er indlysende, at lever- og nyresygdomme påvirker en toksisk effekt, idet muligheden for at nedbryde og udskille et stof kan nedsættes væsentligt. Ernæringsforholdene har en vis indflydelse. Kosten kan indeholde stoffer, der påvirker nedbrydningen af andre, og ved sult vil leverens nedbrydningskapacitet være nedsat.

Interaktioner

Arbejder man med to eller flere stoffer samtidig, vil der være mulighed for gensidig påvirkning mht toksicitet. Benzen påvirker knoglemarven, men ved samtidig inhalation af toluen nedsættes benzens toksiske effekt, fordi toluen hæmmer benzens omdannelse til den toksiske forbindelse. Miljøfaktorer kan indgå som

den ene faktor i en interaktion. Forurenende stoffer tilført med kosten, luft eller vand kan påvirke leverens enzymer, så den normale omsætning af et andet stof hæmmes eller fremmes.

Ved interaktioner taler man om additiv effekt, synergisme, antagonisme og potentiering. Ved additiv effekt bliver virkningen summen af enkeltvirkningerne ($1 + 1 = 2$), mens den ved synergisme bliver større end enkeltvirkningerne ($1 + 1 = 4$). Ved antagonisme bliver effekten mindre end enkeltvirkningerne ($1 + 1 = 1$), og ved potentiering er det ene stof uden effekt, men forstærker effekten af det andet ($1 + 0 = 3$).

Toksikokinetik

I bestræbelserne på at belyse et stofs toksiske egenskaber er det lige så vigtigt at forstå, hvorledes stoffet optages, fordeles og udskilles fra organismen, som at kende til stoffets virkningsmekanismer. Det er ligegyldigt, om et stof er ekstremt giftigt, hvis det ikke kan optages i organismen, og det er yderst problematisk, hvis et lettere giftigt stof når toksiske niveauer i organismen, fordi denne ikke kan eliminere stoffet. Den gren af toksikologien, der beskæftiger sig med alle de processer, der omfatter stoffers absorption, fordeling og elimination, kaldes toksikokinetik, eller beskrivelsen af den måde, organismen behandler stoffet på.

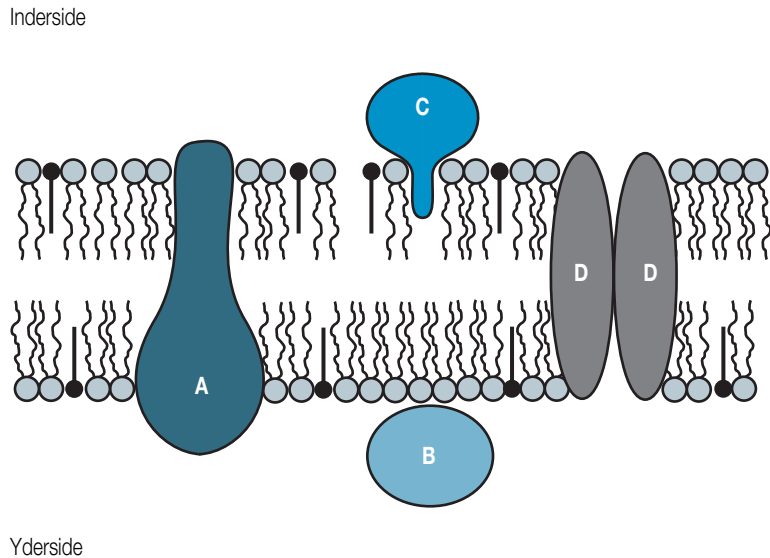
Transport over biologiske membraner

En hvilken som helst organisme, encellet som flercellet, er afgrænset mod omgivelserne af en cellemembran, hvis opgave det er at beskytte organismen.

Cellemembranen er ikke et passivt organ, men højt specialiseret afhængigt af, hvilken celle den tilhører. Generelt er cellemembranens funktion at opretholde volumen og konstante fysisk-kemiske forhold inde i cellen. Derudover regulerer cellemembranen optagelsen af næringsstoffer og molekyler til vedligeholdelse af cellen samt udskillelse af affaldsstoffer. Endelig sikrer cellemembranen elektriske potentialer over cellemembranen i eksitabile (stimulerbare) væv som nervevæv og muskler.

Membranen består stærkt simplificeret af et dobbeltlag af phosphorlipider med fedtsyredelen indad mod membranens indre og proteiner, der enten er placeret på membranens overflade, på dennes inderside eller gennembryder denne og dermed danner forbindelse mellem inder- og yderside (fig. 2.5).

Figur 2.5. Cellemembran angivet skematisk. A: transmembrant protein, B: eksternt protein, C: internt protein, D: transmembrant proteinkompleks (transportkanal).



Membranens proteiner optræder med så forskelligartede funktioner som receptorer, genkendelsesfunktion (forlidelighed) og transportfunktion. Proteinerne varetager således membranens aktive funktion, mens lipidlaget har strukturel funktion. Denne antagelse bygger bl.a. på, at jo mere aktiv en celle er, jo mere protein indeholder membranen.

Transport over biologiske membraner kan deles i passive og aktive transportsystemer. Passiv transport er stort set identisk med diffusion og kræver ikke energi. Fedtopløselige molekyler diffunderer gennem membranens lipiddel, mens små vandopløselige molekyler transporteres gennem vandfyldte porer ved diffusion eller filtration.

Diffusion finder kun sted, hvis der er en koncentrationsforskel over membranen, og filtrationen, hvis der er en trykforskel og for luftarters og dampes vedkommende, hvis der er en forskel i partialtrykket (tensionsforskel).

Diffusionen beskrives matematisk med Ficks lov:

$$\frac{dn}{dt} = -DA \left(\frac{dc}{dx} \right) \quad (1)$$

hvor n er antal molekyler (antal mol), t er tiden, D og A er membrankonstanter og dc/dx er koncentrationsgradienten. I langt de fleste tilfælde kan Ficks lov simplificeres til

$$\frac{dn}{dt} = -K \cdot C \quad (2)$$

hvor K er en membrankonstant, og C er koncentrationen på absorptionsstedet.

Ved passiv diffusion afhænger diffusionshastigheden desuden af stoffets fysisk-kemiske egenskaber: molekylvægt, lipidopløselighed og ionisering.

Jo større molekyle, jo langsommere diffusion, ganske simpelt pga. gnidning mod membranmolekylerne.

Jo mere lipidopløseligt et molekyle er, jo nemmere passerer det gennem membranens lipidmatrix. Hvis et molekyle indeholder polære atomer som ilt, kvælstof eller svovl, vil det danne en vandkappe omkring sig og vanskeliggøre diffusion. Som mål for et stofs lipidopløselighed angives fordelingsforholdet, fx chloroform/vand, jo højere værdi, jo mere lipofilt. Fordelingsforholdet chloroform/vand anvendes ved vurderingen af et stofs fordeling i fedtvæv generelt. Fordelingsforholdet 1-octanol/vand er særlig interessant, fordi 1-octanol har samme lipofile egenskaber som centralnervesystemet og derfor giver et fingerpeg om stoffets optagelse i nervesystemet.

En del organiske stoffer indeholder enten en syre- eller en basegruppe og kan derfor optræde på ioniseret form afhængigt af pH i det omgivende miljø. Forholdet mellem ioniseret og uioniseret form beskrives matematisk i Henderson-Hasselbalch-ligningen:

$$pH = pK_a + \log \frac{A^-}{HA} \quad (3)$$

hvor pK_a er logaritmen til syrens dissociationskonstant og HA og A^- er koncentrationen af hhv. den uioniserede og den ioniserede form.

Da et ioniseret molekyle vanskeligt diffunderer, betyder det, at kun den uioniserede form diffunderer gennem membranen. Hvis pH er forskellig på de to sider af en membran, betyder det, at koncentrationen af stoffet kan være meget forskellig på de to sider; fænomenet kaldes "ion-trapping" (fig. 2.6).

Ion-trapping af svag syre ($pK_a = 3$)	
Plasma, pH = 7,4	Ventrikel, pH = 1,0
$H^+ + A^- \rightleftharpoons HA$	$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$
25000 \approx 1,0	1,0 \approx 0,01
Total mængde af syre og base	
25001	1,01

Figur 2.6. Ion-trapping af svag syre ($pK_a = 3$).

Aktiv transport er meget selektiv. Transportsystemerne er rettet mod fysiologiske substanser som fx kulhydrater, aminosyrer og ioner. Skal fremmedstoffer transporteres med aktive transportsystemer, skal de have en vis lighed med fysiologiske stoffer. Eksempler på stoffer, der transporteres aktivt, er bly og cadmium, der transporteres med et calciumtransporterende system. Aktive transportsystemer kan mættes, dvs de har en maksimal transportkapacitet. Denne mætning er netop årsagen til, at rigeligt calcium i kosten hæmmer optagelsen af bly og cadmium.

Absorption

Absorption kan defineres som et stofs transport fra legemets ydre eller indre overflade til det systemiske kredsløb. Mave-tarmkanalen er den vigtigste absorptionsflade for lægemidler, men i erhvervstoksikologisk sammenhæng er absorption via hud og lunger mere relevante.

Dermal absorption

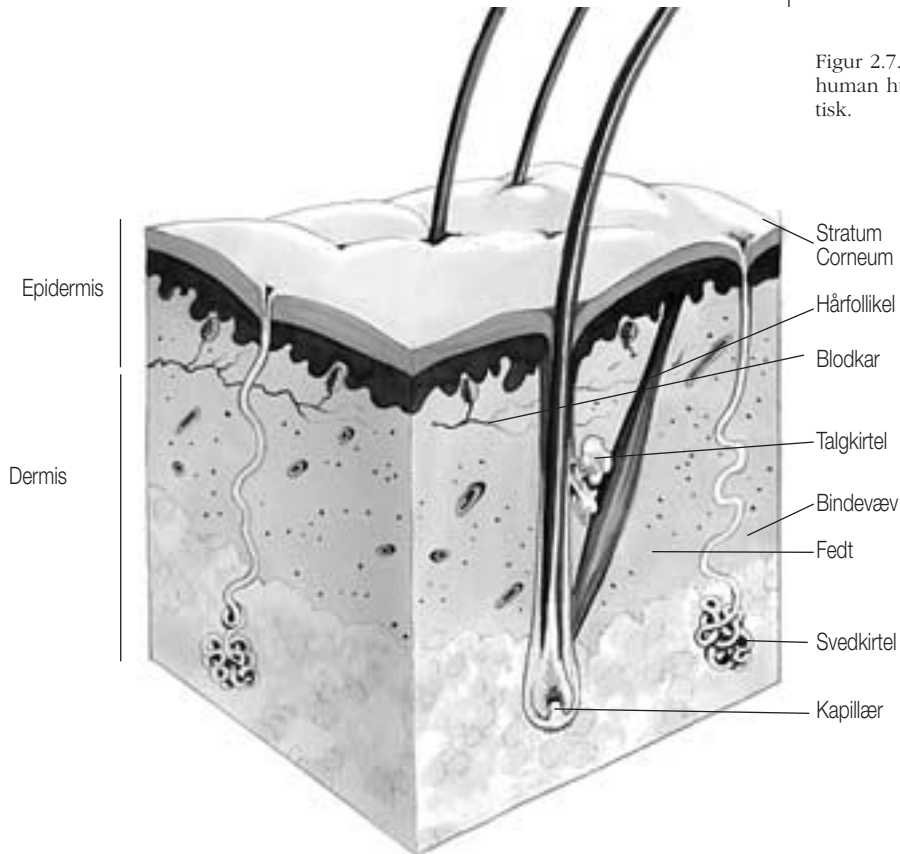
Huden udgør en barriere for påvirkninger på organismen udefra og fungerer samtidig som en del af reguleringen af organismens varme- og væskebalance. Huden kan opdeles i to områder, overhud (epidermis) og læder- og underhud (dermis), hvoraf sidstnævnte udgør 90% af hudens tykkelse (fig. 2.7).

Epidermis, som gennembrydes af hårsække, sved- og talgkirtler, har yderst et lag af døde, forhornede celler (stratum corneum), som bl.a. gør huden uigennemtrængelig for vand. Disse celler, som indeholder kemisk bundet vand, afstødes til stadighed og fornys løbende fra de underliggende cellelag. I underhuden ligger kapillærerne tæt op mod overhuden.

Trods barrierefunktionen kan nogle stoffer, fx kviksølv og organiske opløsningsmidler, optages gennem huden. Optagelsen sker primært ved passiv diffusion gennem dermis og epidermis, og kun i meget begrænset omfang gennem hårsække, sved- og talgkirtler. Kan et stof passere gennem overhuden, er der ikke yderligere hindringer for dets diffusion til kapillærerne i underhuden.

Hudkontakt med et stof kan fremkalde en lokal effekt, som fx ætsning med syre eller base, eller en systemisk effekt efter optagelse i blodbanen, som fx med methylparathion. Da huden stort set har de samme metaboliske enzymesystemer som leveren, om end i mindre mængder, vil en optagelse i blodbanen efter passage af epidermis afhænge af den optagne mængde og stoffets diffusionshastighed samt metaboliseringshastigheden.

Om et stof absorberes fra huden, afhænger af en række fakto-



Figur 2.7. Tværsnit gennem human hud angivet skematisk.

rer. Stoffet skal først og fremmest være ikke-ioniseret og må hverken være for vand- eller lipidopløseligt. Et stof som DDT, der er stærkt lipidopløseligt, absorberes ikke fra huden, men godt fra mave-tarmkanal, mens phenol, der også er godt lipidopløseligt, absorberes godt fra huden. Et insekticid, Isolan, der er ret vandopløseligt, absorberes godt fra huden, men ikke fra mave-tarm. Endvidere afhænger absorptionen af stoffets molekylvægt og struktur.

Overhuden har forskellig struktur, tykkelse og kemisk sammensætning forskellige steder på kroppen, hvilket har betydning for absorptionen (tabel 2.3).

Fugtighed og omgivende temperatur har også indflydelse på absorptionen. Ved kontakt med vand kan overhuden øge sit vandindhold til det femdobbelte og dermed øge permeabiliteten væsentligt. Ved arbejde med handsker kan huden blive opblødt, og såfremt man ikke har valgt det rigtige handskemateriale, kan det stof, man arbejder med, efter nogen tid diffundere gennem handsken og blive absorberet pga den opblødte hud. Hvis den omgivende temperatur bliver tilstrækkelig høj, vil kapillærerne i huden åbne sig med øget blodgennemstrømning til følge. Pga

Tabel 2.3. Absorptionen af parathion og malathion fra forskellige hudområder.

Absorptionsflade	Procent absorberet*	
	Parathion	Malathion
Underarm	8,6	6,8
Håndflade	11,8	5,8
Fodsål	13,5	6,8
Håndryg	21,0	12,5
Pande	36,3	23,2
Øregang	46,6	-
Pung	101,6	-

* 24 timers eksponering med $4\mu\text{g}/\text{cm}^2$

den dermed øgede optagelse af stoffet fra underhuden vil optagelse over overhuden øges.

Såfremt overhuden beskadiges eller fjernes ved kemisk eller mekanisk påvirkning, er der ingen barrierevirkning længere, og det vil fremme optagelsen (tabel 2.4). Mens borsyre fx ikke fremkalder forgiftninger ved anvendelse på normal hud, har man set alvorlige forgiftninger efter anvendelsen på brandsår. Endelig kan fjernelsen af hudlipider øge absorptionen. Behandles huden med en blanding af chloroform og methanol, vil absorptionen af andre stoffer øges.

Tabel 2.4. Absorption af nogle pesticider fra normal, beskadiget og oplødt hud.

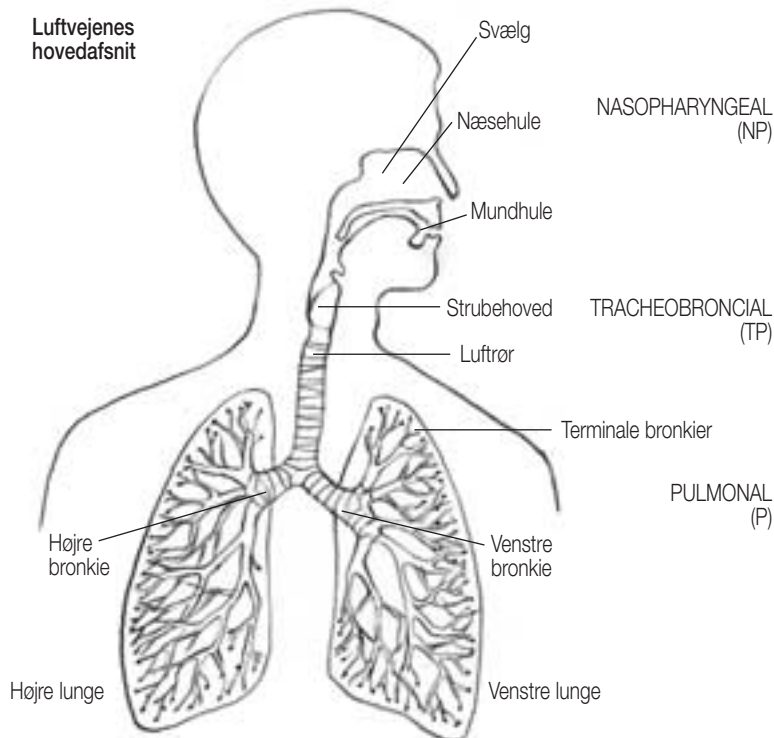
Pesticid	Procent absorberet		
	Normal hud	Beskadiget hud*	Oplødt hud
Diquat	0,4	3,8	1,4
2,4-dichlorophenoxyeddikesyre	5,8	33,8	14,7
Parathion	8,6	73,2	54,8
Azodrin	14,7	100,0	33,6
Guthion	15,9	60,5	56,1
Baygon	19,6	51,0	68,8

* Beskadiget med tape

Den substans, som et stof er opløst i, påvirker også absorptionen. Et lipofilt stof, der er opløst i en lipofil vehikel, vil absorberes dårligere, end hvis det var opløst i en mindre lipofil vehikel. Endvidere kan nogle stoffer, som fx Dimethylsulfoxid (DMSO), øge absorptionen af andre stoffer, uden at man egentlig kan forklare virkningsmekanismen.

Pulmonal absorption

Luftvejene kan deles op i tre afsnit: næse/svælg, luftrør og bronkier og det egentlige lungevæv (fig. 2.8).



Figur 2.8. Luftvejenes anatomi. (Omtegnet fra Snipes, 1989).

Luftvejene er bl.a. forsynet med slimdannende celler og celler med fimrehår. Fimrehårene ligger indlejrede i et slimlag og "skubber" dette lag i retning mod svælg. Ned mod det egentlige lungevæv udtyndes antallet af celler med fimrehår, og længere nede forsvinder også de slimproducerende celler.

Lungevævet består af de respiratoriske bronkioler, dvs de fineste forgreninger af bronkierne, og af alveolerne, som giver lungerne en overflade på ca 70 m². I alveolerne, der er udposninger på bronkiolerne, udgøres ca 90% af overfladen af nogle meget flade celler, som ligger i nær kontakt med kapillærerne. Disse celler udgør en del af den tynde barriere mellem luften i lunge-sækken og blodet.

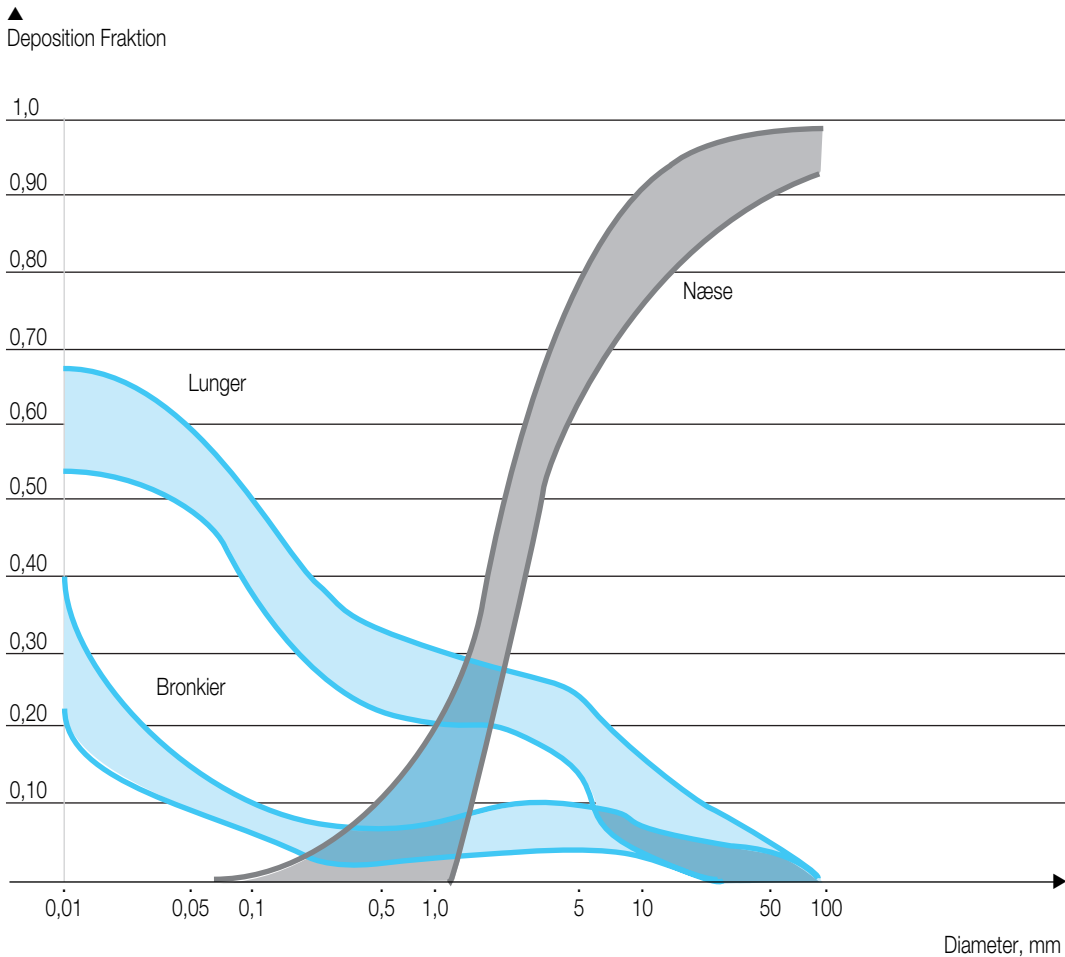
Lungernes totale volumen (TLC) er 5.700 mL. Efter en kraftig udånding vil der være ca 1.200 mL tilbage i lungerne (residual volumen RV). Det maksimale luftskifte (vitalkapacitet VC) vil således være 4.500 mL. I hvile er luftskiftet ca 500 mL pr indånding og frekvensen ca 12-20 gange pr minut svarende til en lungeventilation på 6-10 L/min. Den maksimale lungeventilation, der kan opnås, er ca 60 L/min.

Det normale luftskifte ilt/kuldioxid sker i alveolerne, men luftvejene kan i hele deres udstrækning absorbere fremmedstoffer. Toksiske stoffer kan indåndes enten som partikler eller som gasser (dampe). Stofferne kan udøve lokal virkning eller blive absorberede og i nogle tilfælde en kombination af begge dele. Xylen virker fx irriterende på lungevævet, men absorberes også.

Den indåandede luft kan indeholde et bredt spektrum af partikler med forskellig størrelse og sammensætning (fx støv, røgpartikler, aerosoler af finfordelt fast stof og væskedråber). Idet indåndingsluften på sin vej gennem luftvejene må skifte retning, fordi bronkier og bronkioler gentagne gange deler sig i to grene (fig. 2.8), falder hastigheden i indåndingsluften og dermed dens evne til at transportere partikler. De største partikler (ca 10-30 μm) vil fortrinsvis "lande" i næsens slimlag, og der vil herefter ske en fraktionering efter partiklernes størrelse og massefylde, således at partikler på 5-15 μm hovedsagelig vil bundfældes i luftrør og bronkier, mens partikler på mindre end 5 μm vil kunne komme ned i alveolerne. Sådanne partikler kaldes respirable. Meget små partikler på 0,1 μm og derunder vil blive udåndet igen. At der naturligvis er en glidende overgang mellem partikelstørrelsen, og hvor partiklerne aflejres i luftvejene, fremgår af fig. 2.9.

Figur 2.9. Deponering i næse, bronkier og lunger i forhold til de indåandede partiklers aerodynamiske diameter.

Partikler, der fanges i de øvre dele af luftvejene, vil af fimrehår og slimlaget blive transporteret i retning af svælget, hvorefter de synkes. Dette indebærer en risiko for absorption i mave-tarmka-



nalen. Blyholdigt støv fra trafikerede områder vil fjernes fra lungerne, men blyet bliver optaget i mave-tarmkanalen. Partiklerne kan også fjernes ved optagelse i hvide blodlegemer og andre celler (fagocytose), og er de opløselige, kan de blive absorberede. Ved indånding af partikler kan der reflektorisk udløses nysen eller hoste. De partikler, der kommer ned i alveolerne, kan kun fjernes ved at gå i opløsning eller ved at blive fagocyterede. Den sidste proces kan være meget langsom. Man har målt halveringstider på op til 200 dage.

Uopløselige partikler fjernes med forskellig hastighed fra de forskellige afsnit af luftvejene (tabel 2.5).

Organ	Halveringstid
Luftrør	2-3 min.
Øvre bronkier	20-30 min.
Nedre bronkier	80-120 min.
Distale bronkioler	300 min.
Alveoler	60 dage

Tabel 2.5. Eksempel på halveringstid for uopløselige partikler i forskellige afsnit af luftvejene.

Indeholder luften partikler, er der stor forskel på, om man er mund- eller næseånder. Ved indånding gennem næsen frafiltreres en stor del af de større partikler allerede i næsehulen. Mus og rotter er obligatoriske næseåndere, mens mennesker, aber og hunde er både mund- og næseåndere, et forhold der må tages i betragtning ved vurdering af dyreforsøg.

Gasser

Gasser kan virke lokalt i luftvejene eller efter absorption. Hvor i luftvejene gasserne har deres lokale virkning, afhænger af deres opløselighed. Letopløselige gasser vil virke i de øvre luftveje, mens uopløselige gasser vil trænge helt ned i alveolerne. Ammoniak vil fx reagere i de øvre luftveje, mens nitrose gasser vil udøve deres virkning i alveolerne. Det første gælder imidlertid kun, når det drejer sig om lavere koncentrationer af de opløselige gasser. Ved højere koncentrationer, som ses ved ulykker, vil også de opløselige luftarter kunne nå dybt ned i luftvejene.

Følgende faktorer har indflydelse på optagelsen af gasser:

- ◆ gassens fordelingsforhold blod/luft
- ◆ den alveolære ventilation
- ◆ blodgennemstrømningen i lungerne
- ◆ koncentrationen af gassen i indåndingsluften
- ◆ evt. metabolisme.

Ved en gas's fordelingsforhold (Ostwalds koefficient) forstås forholdet mellem koncentrationerne i blodet og i luften, når ligevægten har indstillet sig mellem to lige store rumfang, dvs at partialtrykket (tensionen) er det samme i begge medier (tabel 2.6).

Tabel 2.6. Fordelingsforholdet blod/luft for nogle kulbrinter og alkoholer.

Opløsningsmiddel	Blod/luft fordelingsforhold
Ethylen	0,14
Acetylen	0,82
Benzen	7,8
o-xylen	13,1
Styren	51,9
Ethylacetat	222,0
Methanol/ethanol	2100,0
Carbontetrachlorid	2,4
1,1,1-trichlorethan	3,3
1,1,2-trichlorethan	38,6
1,1,1,2-tetrachlorethan	30,4
1,1,2,2-tetrachlorethan	121,0

Fordelingsforholdet blod/luft afviger væsentligt fra fordelingsforholdet vand/luft, da blodet indeholder lipider o.a., der kan binde stofferne. For toluen er de to værdier hhv 14 og 2.

Man kan på samme måde tale om et fordelingsforhold mellem blod og organer. Dette angiver ligeledes koncentrationsforholdet ved tensionslignevægt. I tabel 2.7 er angivet fordelingsforholdet for trichlorethylen i forskellige organer.

Rotter			
	Fordelingsforhold	Fordelingsforhold	
Blod/luft	25,8	Lever/blod	1,7
Hjerne/blod	1,3	Nyrer/blod	1,6
Hjerte/blod	1,1	Milt/blod	1,2
Muskel/blod	0,6	Testikler/blod	0,7
Fedt/blod	25,6		
Mennesker			
Blod/luft	9,5	Fedt/blod	68,0

Tabel 2.7. Fordelingsforholdet blod/luft og organer/blod for trichlorethylen.

Fordeleingsforholdet organ/luft findes ved at kombinere fordelingsforholdene blod/luft og organ/blod. Dette bliver for trichlor-ethylen ved tensionsligevægt for fedt/luft hos rotter $25,8 \times 25,6 = 640$ og hos mennesket $9,5 \times 68,0 = 646$.

Ved indånding af en gas vil den momentant diffundere gennem cellerne i alveolevæggen over i blodet, indtil partialtrykket er ens på begge sider. Blodet afgiver gassen til andre væv, men på et tidspunkt kommer blodet tilbage indeholdende lidt af gassen, og den mængde, der nu diffunderer over, bliver mindre. Til slut vil blodet vende mættet tilbage til kapillærerne i alveolerne, og der vil ikke optages mere gas. På dette tidspunkt er partialtrykket det samme i luft, blod og samtlige organer.

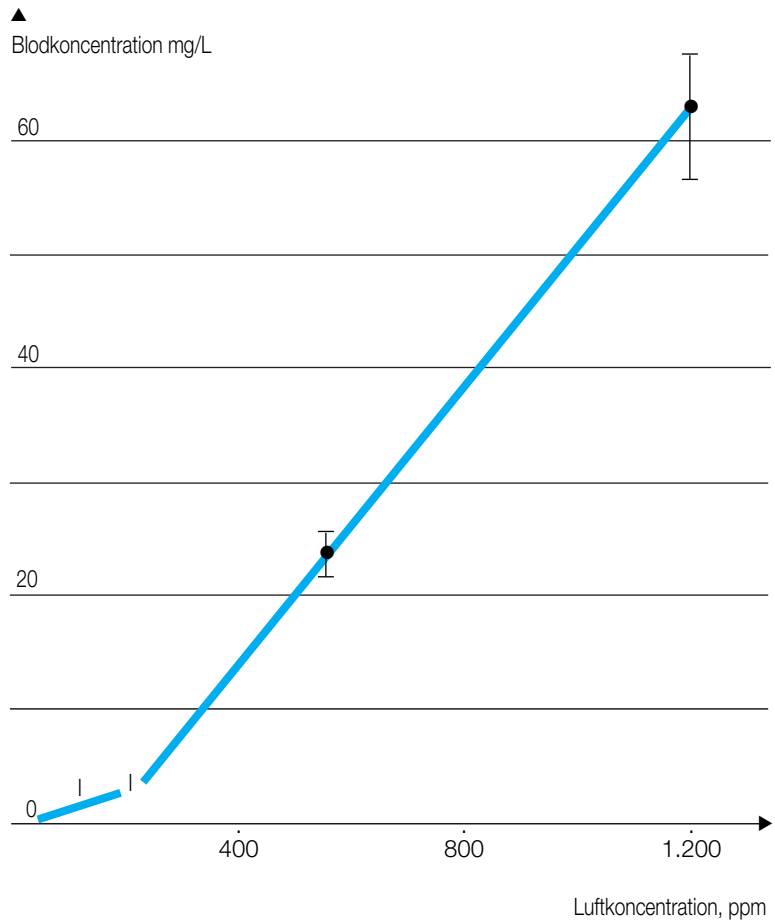
Den endelige koncentrationen af gassen i organismen afhænger alene af gaskoncentrationen i indåndingsluften, men hvor hurtigt gassen optages, afhænger af den alveolære ventilation og blodgennemstrømningen i lungerne. Ved gasser med et lavt fordeleingsforhold, fx ethylen, vil en øgning af blodgennemstrømningen øge optagelseshastigheden, mens en øgning af ventilationen ikke vil ændre hastigheden væsentligt. For stoffer med stort fordeleingsforhold, fx styren, vil det modsatte være tilfældet. Bortset fra ulykkessituationer forekommer gasser i arbejdsmiljøet i lave koncentrationer, men da eksponeringen oftest sker under arbejde, hvor der er øget hjertevirksomhed og øget respirationsfrekvens og -dybde, vil absorptionshastigheden være stor.

Ved metaboliserbare gasser vil der i ligevægtstilstanden fortsat optages gas svarende til den metaboliserede mængde. Øges gaskoncentrationen i indåndingsluften, kan leverens metaboliseringskapacitet overskrides, og gassen vil nu opføre sig som en ikke-metaboliserbar gas, og blodkoncentrationen vil stige kraftigt ved yderligere øgning af gaskoncentrationen (fig. 2.10).

Peroral absorption

Ved peroral absorption betragtes hele mave-tarmkanalen fra mundhule til endetarm som absorptionsflade, men pga sin store overflade er tyndtarmen det vigtigste absorptionsorgan. Med undtagelse af stoffer, der virker ætsende eller stærkt irriterende på mave-tarmkanalens slimhinder, vil gifte være uden effekt, medmindre de optages. Tarmslimhindens celler er udstyret med aktive transportsystemer, der formidler transporten af næringsstoffer fra tarmen til blodet. Disse transportsystemer er specifikt rettet mod bestemte molekyler, men den vigtigste transportform for kemikalier er passiv diffusion. Ved peroral absorption spiller fyldningsgraden, motiliteten, pH, tilstedeværelsen af kompleksbindere og lipofile stoffer en stor rolle for absorptionen. Fyldningsgrad, motilitet og pH har alene indflydelse på absorp-

Figur 2.10. Koncentrationen af styren i blodet i relation til koncentrationen i indåndingsluften. (Andersen, 1982).



tionshastigheden, mens kompleksbindere og lipofile substanser desuden kan påvirke absorptionsfraktionen, altså den absorberede mængde. Da pH i tarminholdet normalt er neutralt til svagt basisk, vil visse tungmetaller bindes som phosphater, carbonater eller til organiske kompleksdannere. Hvis tarminholdet er stærkt fedtholdigt, vil lipofile stoffer "trækkes" med over tarmvæggen.

Fordeling

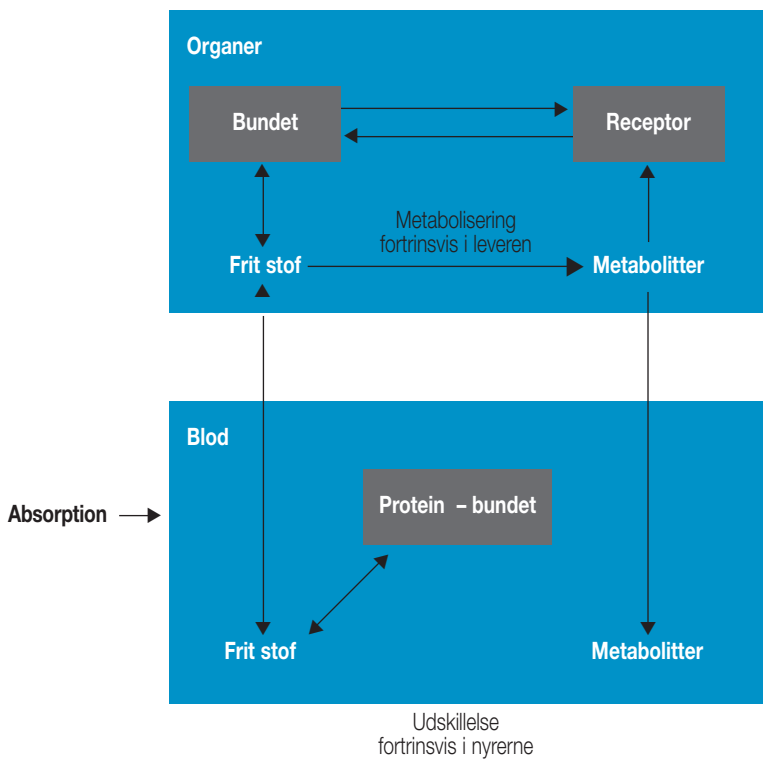
Efter absorptionen fordeler blodet stoffet i resten af organismen; jo større gennemblødning, jo hurtigere optræder der ligevægt mellem blodet og organismens forskellige organer. Transporten fra blodbane til organ sker ved passiv transport.

Til at illustrere et stofs skæbne i organismen anvendes Brodie-

Gillettes kassemodel (fig. 2.11), der kan betragtes som et stærkt simplificeret billede af organismen.

Ved passage fra en kasse til en anden overskrides en eller flere biologiske membraner, idet organismen så at sige består af en række områder, der hver især er karakteriseret ved deres afgrænsning, størrelse og fysisk-kemiske egenskaber.

Ved et stofs fordeling i organismen er det vigtigt at være opmærksom på, at bortset fra virkningsstedet er det kun den frie fraktion af stoffet, der er biologisk aktiv. Stof, der er bundet i vævsdepot eller i plasma, er inaktivt.



Figur 2.11. Brodie-Gillettes kassemodel.

Fordelingsrum

Almindeligvis antager man, at et stof fordeles over organismens totale vandfase, der traditionelt inddeles i en række fordelingsrum, som angivet i tabel 2.8. Denne vandfase vil igen være i

Tabel 2.8. Fordelingen af organismens vandfase.

Vandfase	Vol. % af kropsvægt
Plasmavand	5%
Interstitielvæske	16%
Intracellulærvæske	35%
Transcellulærvæske	2%

ligevægt med vævets øvrige bestanddele. Denne fordeling ude i vævene er forklaringen på, at hvis en række stoffer indgives i samme mængde til samme person, vil plasmakoncentrationen ofte være forskellig. Hvis stoffet er ioniseret og vandopløseligt, vil det hovedsagelig fordeles i ekstracellulærvæsken, og plasmakoncentrationen vil være høj. Hvis stoffet derimod er fedtopløseligt, vil det ophobes i fedtholdigt væv som nerve- og fedtvæv, og plasmakoncentrationen vil derfor blive lav. Plasmakoncentrationen kan således give et fingerpeg om, hvorledes et stof fordeles i organismen. I tabel 2.9 er angivet en række stoffer med stærkt varierende fordeling.

Tabel 2.9. Sammenhængen mellem dosis og plasmakoncentration.

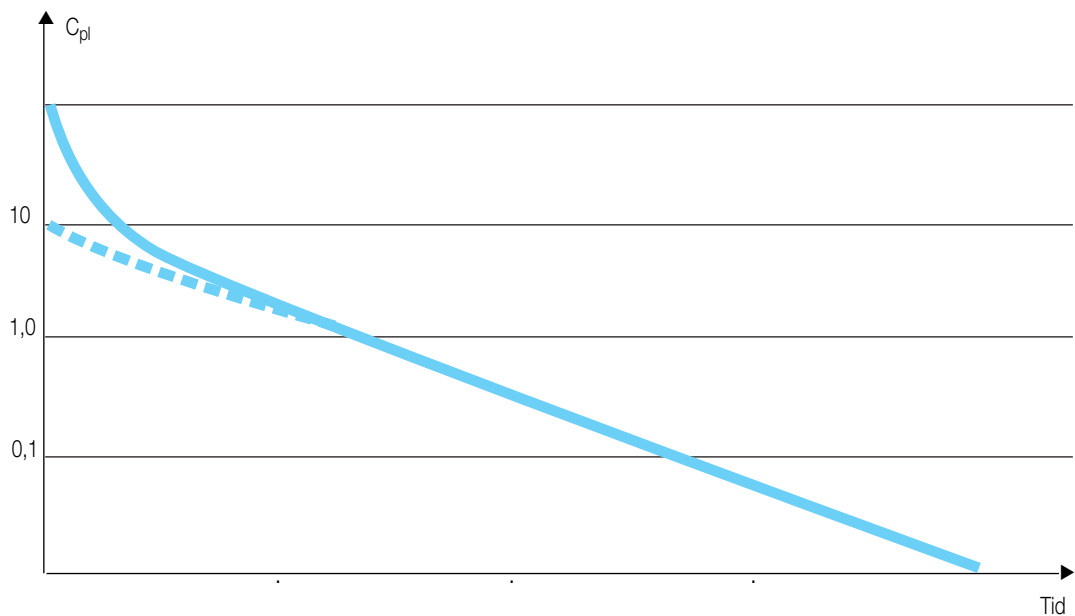
Substans	Dosis, mg/kg	C _{pl} , mg/L
Evans blue	10,0	278
Inulin	10,0	50
Ethanol	10,0	19
Fructose	10,0	9
Quinacrin	10,0	0,62

Alle de områder af organismen, hvor koncentrationen af et stof på et givet tidspunkt er den samme, kaldes et fordelingsrum eller kompartment. Et kompartment kan således bestå af mange mindre områder spredt i organismen. Ved det centrale kompartment forstås kredsløbet og rigt vaskulariserede organer som hjerne, hjerte, lever, lunger og nyrer. Ved et perifert kompartment forstås områder med varierende eller ringe vaskularisering som muskeltvæv, fedtdepoter, hud og knogler. Ved den matematiske beskrivelse af stoffers fordeling tales om et-, to- eller flerkompartmentsystemer afhængigt af det pågældende stofs fordeling i organismen. Da hele organismen er i dynamisk ligevægt, er det vanskeligt at bestemme koncentrationen i de enkelte kompartments korrekt. Man arbejder derfor med et teoretisk begreb, det tilsyneladende fordelingsrum V_d defineret som det (hypotetiske) volumen, stoffet ville fordeles over, hvis koncentrationen overalt var den samme som i plasma. V_d kan beregnes ud fra formlen:

$$V_d = \frac{D}{C_{pl_0}} \quad (4)$$

hvor D = intravenøst injiceret dosis, C_{pl_0} = plasmakoncentrationen til tiden 0. Betingelserne for formlens anvendelse er, at stoffet er i fordelingslignevægt og har 1. ordens kinetik (uddybes senere). C_{pl} til tiden nul bestemmes ud fra en semilogaritmisk afbildning af plasmakoncentrationen som funktion af tiden (fig. 2.12).

Figur 2.12 Plasmakoncentrationen afsat som funktion af tiden efter intravenøs injektion.



I tabel 2.10 er det tilsyneladende fordelingsrum udregnet for stofferne i tabel 2.9. Som det ses, kan beregning af fordelingsrummet antage forholdsvis store værdier, der kan synes urealistiske.

Substans	Dosis, mg/kg	C_{pl} , mg/L	V_d , L/kg
Evans blue	10,0	278	0,036
Inulin	10,0	50	0,20
Ethanol	10,0	19	0,52
Fructose	10,0	9	1,1
Quinacrin	10,0	0,62	16,2

Tabel 2.10. Sammenhængen mellem dosis, plasmakoncentration og det tilsyneladende fordelingsrum V_d .

Fysiologisk model

Mens den klassiske farmakokinetik (kompartimentmodellerne) har kunnet give rimelige svar på stoffers skæbne i organismen, er der med den øgede anvendelse af EDB skabt mulighed for dels at forfine denne kinetik ved at udvide antallet af kompartimenter, dels at opstille de såkaldte fysiologiske modeller. En fysiologisk model kan betragtes som en model, sammenbygget af en række én-kompartimentmodeller, hvert repræsenterende et eller flere organer. For hvert af disse organer skal man kende organets størrelse, blodgennemstrømningen, fordelingsforholdet organ/blod og metaboliseringen i organet. Såfremt absorptionen sker via lungerne, skal ventilation og blodgennemstrømning gennem lungerne også kendes. En række af sådanne parametre kan findes i litteraturen, men er dette ikke tilfældet, må man selv fremskaffe dem ved fx in vitro undersøgelser. Fordelen ved den fysiologiske model er, at den kan 1) vise fordelingen af stof i organerne til ethvert tidspunkt, 2) vise virkningen af fysiologiske ændringer, 3) vise virkningen ved komplicerede doseringer og 4) anvendes til ekstrapolation af de kinetiske forhold fra dyreforsøg til mennesker med langt større sikkerhed end hidtil. At opstille en fysiologisk model kræver imidlertid et solidt matematisk grundlag, men det er i dag muligt at erhverve sådanne modeller kommercielt. I fig. 2.13 vises et eksempel på en fysiologisk model for et fedtopløseligt lægemiddel.

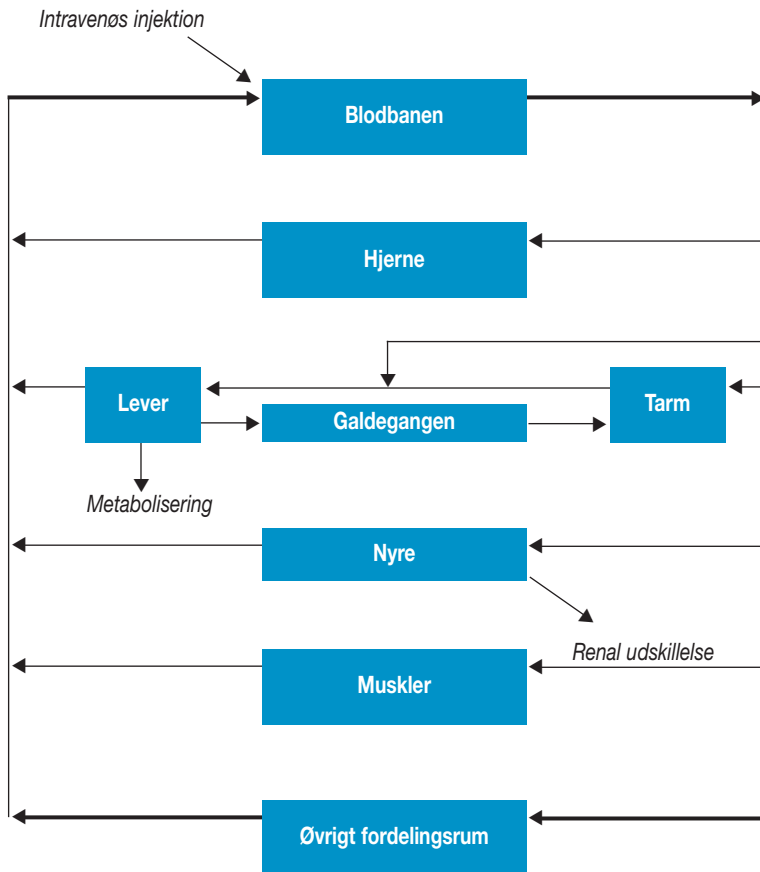
Faktorer med betydning for stoffers fordeling

Vaskularisering

Det er velkendt, at blodgennemstrømningen varierer stærkt i kroppens forskellige organer. Hjerne og nyrer modtager således hhv 15 og 25% af minutvoluminet, mens fedtvæv kun modtager 1-2%. Jo større del af minutvoluminet et organ modtager, jo hurtigere indtræder en mulig toksisk effekt. Fænomenet kendes fra narkomanernes "sus". Et hurtigt intravenøst fix giver øjeblikkelig effekt på hjernen.

Fedtholdigt væv

Jo mere lipofilt et stof er, jo større er fordelingsforholdet fedt/vand, og jo mere fedt et organ indeholder, jo højere koncentrationer kan opnås med det pågældende stof. Nervesystem og fedtdepoter er eksempler på organer med et højt fedtindhold, hvor der kan opnås høje koncentrationer med et lipofilt stof. Koncentrationen af et lipofilt stof stiger hurtigt i nervesystemet pga den store gennemblødning, mens fedtvæv med ringe gen-



Figur 2.13. Fysiologisk model for et metaboliserbart stof.

nemblødning optager stoffet med væsentlig lavere hastighed. Da fedtvæv selv hos slanke mennesker udgør 15-20% af legemsvægt og hos fede 50% eller mere, kan der oplagres betragtelige mængder af et lipofilt stof i denne fedtfase. Ved kortvarige eksponeringer vil denne fedtfase virke beskyttende, idet et lipofilt stof hurtigt vil overføres til fedtvævet fra andre organer. Til gengæld vil længere tids eksponering medføre, at der opbygges et stort depot af stof i fedtet. Efter eksponeringens ophør vil der derfor gå lang tid, før alt stof er elimineret. DDT, PCB og dioxin er eksempler på stoffer, der akkumuleres i store mængder i fedtvæv.

Plasmaproteinbinding

Mange stoffer bindes i større eller mindre grad til blodets protei-

ner, specielt til plasmaalbumin. Plasmaproteinbindingen kan være meget høj, mere end 99% af det i plasma værende stof kan være bundet til albumin.

Som tidligere nævnt, er det kun et stofs frie fraktion, der er biologisk aktiv. Høj plasmaproteinbinding kan derfor specielt ved kortvarig eksponering mindske den toksiske virkning ganske betydeligt. På den anden side kan høj bindingsgrad få toksikologiske konsekvenser, hvis stoffet pludselig frigøres fra bindingen, fx i konkurrence med et andet stof, således at den ubundne fraktion stiger voldsomt. Det er velkendt, at lægemidler konkurrerer indbyrdes eller med andre fremmedstoffer om bindingsstederne.

Knoglevæv

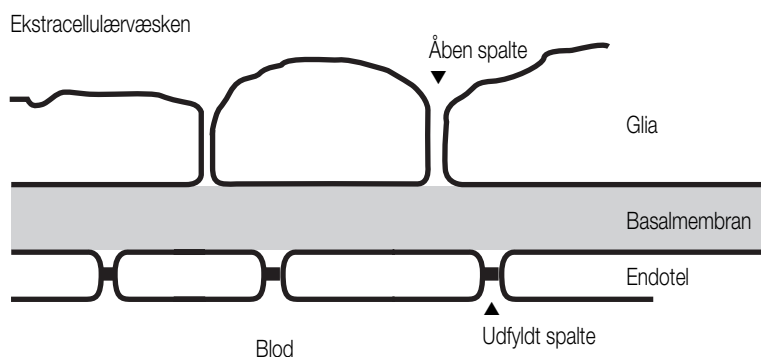
Knoglevæv er et relativt inaktivt væv, men ikke desto mindre kan fremmedstoffer akkumuleres i knoglevævet. Det bedst kendte eksempel er bly, men strontium og fluor er også stoffer, der kan aflejres i knoglevæv. Bly og fluor indlejres ved simpel ionbytning med hhv calcium og fosfat, hvorved der dannes tungt opløselige komplekser. Strontium indbygges i knoglematrix ved at konkurrere med calcium. Knoglevævet kan indeholde store mængder bly uden påviselige effekter, mens fluor og strontium giver anledning til toksiske reaktioner, fluorose (knogler og tænder) og cancer.

Blod-hjerne barrieren

Centralnervesystemet er afskærmet fra resten af organismen af blod-hjerne barrieren.

I en normal kapillærvæg er der spalter mellem de enkelte endotelceller, men disse spalter er lukkede i centralnervesystemets kapillærer, således at al stoftransport skal gå gennem endotelcellerne og ikke mellem dem (fig. 2.14).

Figur 2.14. Blod-hjerne barrieren angivet skematisk.



Medmindre et stof transporteres aktivt, er eneste mulighed diffusion. Derfor er det kun lipofile stoffer, der uden besvær trænger ind i centralnervesystemet. Eksempler på stoffer, der passerer blod-hjerne barrieren uhindret, er organiske opløsningsmidler, organisk kviksølv og PCB. Hos mennesket er blod-hjerne barrieren ufuldstændig ved fødslen.

Placenta

Placenta udgør grænsefladen mellem moderorganisme og foster og dermed den barriere, som nærings- og affaldsstoffer udveksles over. Placenta er ikke den eneste adgang til fosteret, idet stoffer afgivet til fostervandet i livmoderen kan optages gennem fosterets totale overflade. Da passagen over placenta for de fleste fremmedstoffer er passiv transport, vil alle lipofile stoffer passere over i fosteret fra moderen. Kviksølv, bly og alle organiske opløsningsmidler inkl. alkohol er eksempler på stoffer, der overføres til fosteret og kan beskadige dette. Selvom transportformen er passiv diffusion, er denne ret kompliceret, fordi der indgår en række koncentrationsgradienter mellem moder- og fosterorganisme:

- ◆ moder/foster (choriongradient)
- ◆ moder/amnionvæske (chorion/amniongradient)
- ◆ amnionvæske/foster (amniongradient)
- ◆ arterio-venøs gradient hos moderen
- ◆ arterie-venøs gradient hos foster
- ◆ gradient over placenta.

Da placenta og foster besidder nogen metaboliseringsaktivitet, kan moder/foster gradienten kompliceres yderligere. Kviksølvs neurotoksiske effekt forstærkes af, at organisk kviksølv, der er lipofilt, let optages i fosterets nervesystem, hvor det så oxideres til den uorganiske kviksølvion, der kun vanskeligt passerer biologiske membraner, men som er den egentlige neurotoksiske substans.

Luftarters og dampes fordeling

Hvor hurtigt der indtræder ligevægt i partialtrykkene mellem luft, blod og de forskellige organer, afhænger af stoffernes fordelingsforhold blod/luft og organer/blod samt blodgennemstrømningen i de enkelte organer. Således vil ligevægten mellem blod og hjerne indstille sig meget hurtigt pga den kraftige blodgennemstrømning i hjernen, mens ligevægten trods stort fordelingsforhold organ/blod indstiller sig langsomt mellem blod og fedtvæv pga

den ringe blodgennemstrømning. Med ethylen, som både har lavt fordelingsforhold blod/luft og organer/blod, vil ligevægtstilstanden indtræde på mindre end en halv time, mens det vil tage 42 dage med mineralsk terpentin, som både har stort fordelingsforhold blod/luft og organer/blod. Akutte forgiftninger med gasser vil imidlertid kunne opstå, længe før den endelige ligevægtstilstand er nået. Ved bedøvelse med de moderne anæstetika vil bevidstløsheden typisk indtræde, allerede når 10% af ligevægtstilstanden er nået.

Elimination

Fra det øjeblik et stof er absorberet i organismen, begynder eliminationsprocesserne. Eliminationen omfatter alle de processer, der fjerner stof fra organismen eller fjerner stoffets effekt. Som nævnt under fordeling vil fordelingsprocesserne kunne nedsætte den aktive koncentration på virkningsstedet så meget, at effekten i praksis fjernes. Det siger sig selv, at denne effekt kun finder sted ved en enkelt eller ganske få eksponeringer.

Den totale elimination af et fremmedstof er summen af følgende processer:

- ◆ enzymatisk omdannelse (biotransformation)
- ◆ udskillelse via nyrerne (renal udskillelse)
- ◆ udskillelse med galden (biliær udskillelse)
- ◆ udskillelse i tarmen (fækal udskillelse)
- ◆ udskillelse i lungerne (pulmonal udskillelse)
- ◆ udskillelse i mælken
- ◆ udskillelse via hud, hår, sved etc.

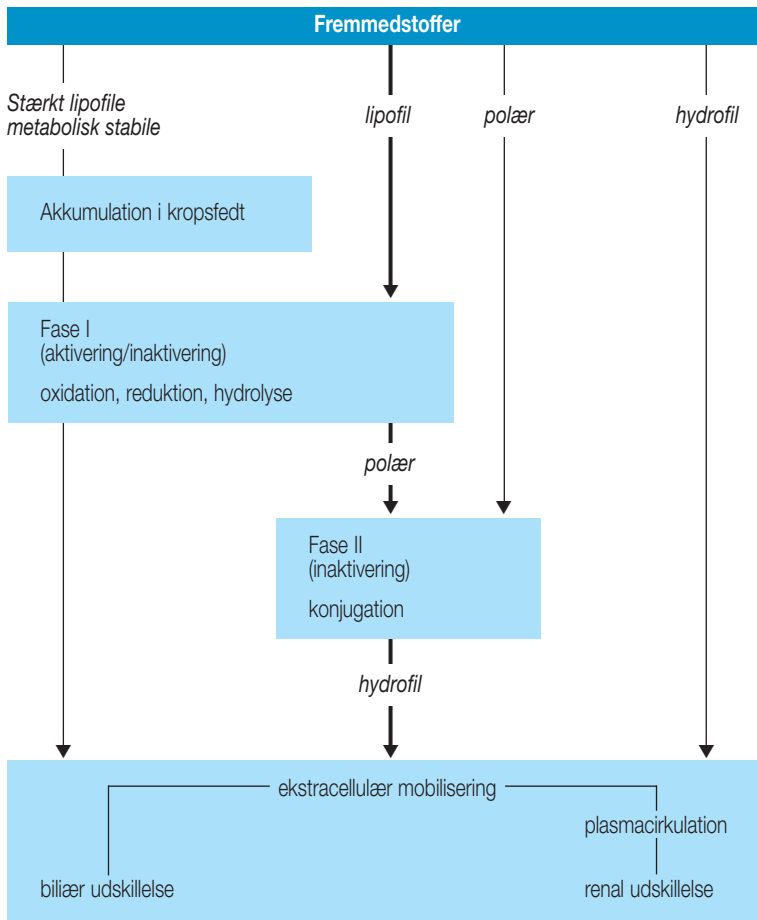
Hovedeliminationsprocesserne er, bortset fra gasser og dampe, biotransformation, biliær og renal udskillelse. I fig. 2.15 er fremmedstoffers elimination angivet skematisk.

Biotransformation

Fremmedstoffer, der optages i organismen, omdannes oftest ved enzymatiske reaktioner, og fænomenet kaldes biotransformation. Lever, nyrer, tarmepitel, lunger og hud er alle i stand til at omdanne fremmedstoffer, men der er både kvalitative og kvantitative forskelle mellem de enkelte organer.

Mikrosomale enzymsystemer

Leveren er det kvantitativt vigtigste organ, og de enzymer, der



Figur 2.15. Oversigt over stoffers biotransformation.

varetager hovedparten af omdannelsen, er lokaliseret til cellernes glatte endoplasmatiske retikulum (mikrosomer).

Biotransformationen i det mikrosomale enzymesystem øger praktisk taget altid vandopløseligheden af det omsatte stof, og derved fremmes udskillelsen i nyrerne, der har vanskeligt ved at udskille fedtopløselige stoffer. Det mikrosomale enzymesystem er ved en umiddelbar betragtning uspecifikt, men systemet består af en lang række isoenzymer med forskellig substratspecificitet. Tidligere navngav man de enkelte isoenzymer efter de reaktioner, de katalyserede, men i dag anvender man en genetisk nomenklatur. Det mikrosomale ethanol-oxiderende system (MEOS) hedder med den ny nomenklatur CYP 2E1, hvor CYP angiver, at der er tale om et cytochrom P-450 enzym, 2-tallet angiver isoenzymnummeret, E angiver subfamilie E og 1-tallet, at der kun er 1 gen. I dag kendes ca 25 isoenzymer, men tallet stiger stadig.

Det er meget vigtigt at gøre opmærksom på, at biotransformationen ikke nødvendigvis automatisk medfører en afgang, da metabolitterne i nogle er tilfælde mere toksiske end modersubstansen. En lang række kræftfremkaldende stoffer skal først metaboliseres, før de bliver kræftfremkaldende.

Metaboliseringsreaktionerne inddeles i Fase I-reaktioner, hvoraf hovedparten er oxidationer og ganske få reduktioner, og Fase II-reaktioner, hvor fremmedstoffet eller dets metabolitter konjugeres (kobles) med et fysiologisk stof. Fase II-reaktionerne medfører praktisk taget altid en fuldstændig inaktivering af det pågældende stof.

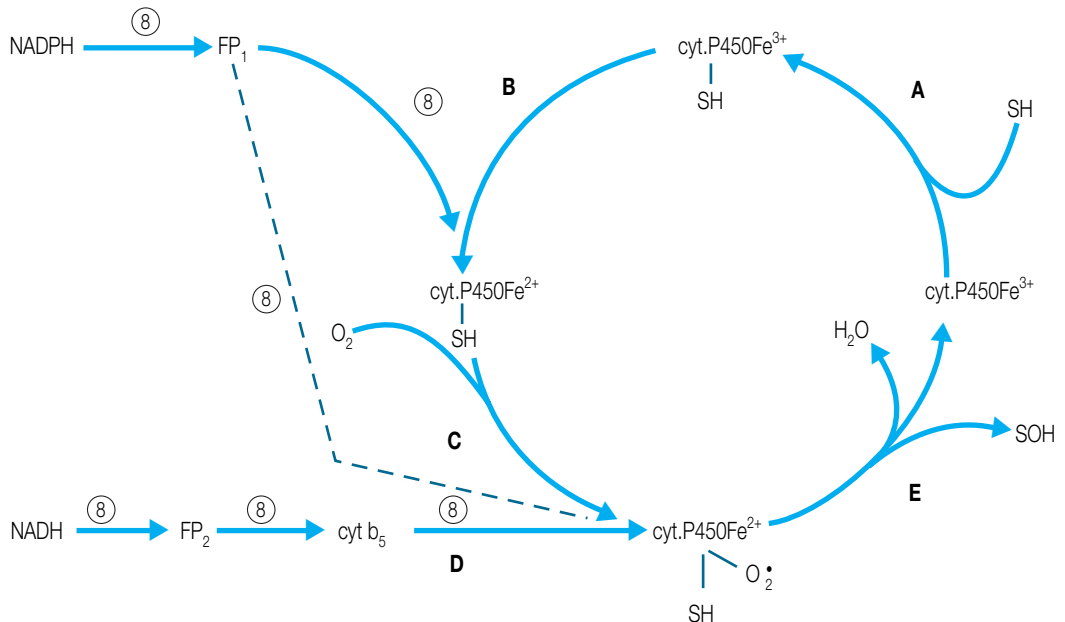
Fase I-reaktioner

Tabel 2.11. Vigtige fase I-reaktioner.

Mikrosomal oxidation	
1. Aromatisk hydroxylering.	$R-\text{C}_6\text{H}_5 \longrightarrow R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$
2. Alifatisk hydroxylering	$R-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3 \longrightarrow R-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_3$
3. N, O, eller S-dealkylering	$R-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{N}(\text{O},\text{S})}}-\text{CH}_3 \longrightarrow R-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{N}(\text{O},\text{S})}}-\text{H}$
4. Epoxiddannelse	$R-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}' \longrightarrow R-\overset{\text{O}}{\text{C}}\text{H}-\text{CH}-\text{R}'$
5. Desulfatering	$R_1R_2\overset{\text{S}}{\text{P}}-\text{X} \longrightarrow R_1R_2\overset{\text{O}}{\text{P}}-\text{X} + \text{S}$
6. N-hydroxylering	$R-\text{NH}-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}_3 \longrightarrow R-\text{NOH}-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{CH}_3$
Mikrosomal reduktion	
1. Azoreduktion	$R-\text{N}=\text{N}-\text{R}' \longrightarrow R-\text{NH}_2 + \text{H}_2\text{N}-\text{R}'$
2. Nitroreduktion	$R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2 \longrightarrow R-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NH}_2$
Anden oxidation	
1. Alkoholoxidation	$R-\text{CH}_2-\text{OH} \longrightarrow R-\text{CHO}$
2. Aldehydoxidation	$R-\text{CHO} \longrightarrow R-\text{COOH}$
Hydrolyse	
1. Esterhydrolyse	$R-\text{COO}-\text{R}' \longrightarrow R-\text{COOH} + \text{HOR}'$
2. Amidhydrolyse	$R-\text{CONH}-\text{R}' \longrightarrow R-\text{COOH} + \text{H}_2\text{N}-\text{R}'$

Cytochrom P450-systemet

Reaktionsforløbet af det oxidative cyt.P450-system er skitseret i fig. 2.16.



Reaktionen består af fem trin:

- ◆ Substratet SH bindes til det oxiderede enzymkompleks.
- ◆ En elektron overføres til enzym-substrat komplekset, der derved reduceres.
- ◆ Enzym-substrat komplekset optager et iltmolekyle.
- ◆ Enzym-substrat komplekset optager endnu en elektron, der reducerer iltmolekylet til den reaktive superoxidation.
- ◆ Det aktiverede enzym-substrat kompleks spaltes nu til det oxiderede substrat SOH og til vand, og samtidig gendannes det oxiderede enzymkompleks.

Det er meget vigtigt at gøre sig klart, at ud over at indføre/fri-lægge grupper, der kan konjugeres i en efterfølgende Fase II-reaktion, kan Fase I-reaktionen som tidligere nævnt medføre dannelsen af reaktive metabolitter, der i sig selv kan være yderst toksiske. Visse bekæmpelsesmidler skal faktisk metaboliseres, før de virker. Thiophosphatetrene, hvortil parathion (bladan) hører, er i sig selv ret ugiftige, men oxideres de til oxoforbindingen

Figur 2.16. Skematisk fremstilling af den cyt.P450-afhængige oxidation af fremmedstoffer.

(parathion til paraoxon), øges giftigheden betragteligt. Normalt anses bioaktiveringen for at være en uønsket effekt; flere af disse reaktioner samt deres toksiske virkninger omtales senere i afsnittet.

Fase II-reaktioner

Tabel 2.12. Vigtige fase II-reaktioner.

Konjugator	Substrat	Eksempel
Glucuronidering	—OH	Alifatiske alkoholer Phenoler
Aktiveret glucuronsyre	—COOH	Alifatiske syrer Aromatiske syrer
	—NH ₂	Aromatiske aminer Amider
Sulfatering	—OH	Alifatiske alkoholer Phenoler
Aktiveret sulfat	—NH ₂	Aromatiske aminer
Glycin	—COOH	Aromatiske syrer
Acetylering		Alifatiske aminer
Aktiveret eddikesyre	—NH ₂	Aromatiske aminer Hydraziner Sulfonamider
Methylering	>N	N-heterocykler
Aktiveret methyl	—NH ₂ —OH	Alifatiske aminer Phenoler
Mercaptursyresyntese		Lipofile substanser, der indeholder et elektrofilt carbonatom (bl.a. mikrosomt dannede epoxider)
Glutathion	$\text{—}\overset{\cdot}{\text{C}}\text{—}$ 	

Fase II-reaktionerne medfører oftest fuldstændigt tab af den biologiske aktivitet og ændrer metabolittens fysisk-kemiske egenskaber yderligere. Vandopløseligheden stiger, og konjugatet vil normalt være ioniseret ved fysiologisk pH, hvorved udskillelsen gennem nyrerne øges.

Glucuronsyre-, sulfat- og glutathionkoblingen er de kvantitativt vigtigste Fase II-reaktioner, men glutathionkoblingen indtager en særstilling, idet den kan fungere som "bagstopper", hvis de andre systemers kapacitet overskrides.

Faktorer med indflydelse på biotransformationen

Biotransformationen er underlagt en række faktorer:

- ◆ artsvariation
- ◆ etnisk/genetisk variation
- ◆ fysiologiske faktorer
- ◆ påvirkning fra ydre faktorer.

Artsvariation

Der kan være store forskelle fra art til art i et stofs metaboliseringsmønster. Det er et fænomen, der især har betydning ved vurderingen af et stofs toksiske egenskaber, idet man ikke umiddelbart kan overføre resultaterne fra dyreforsøg til mennesket.

Tabel 2.13 angiver phenols kobling til hhv glucuronsyre og sulfat for en række forskellige dyrearter.

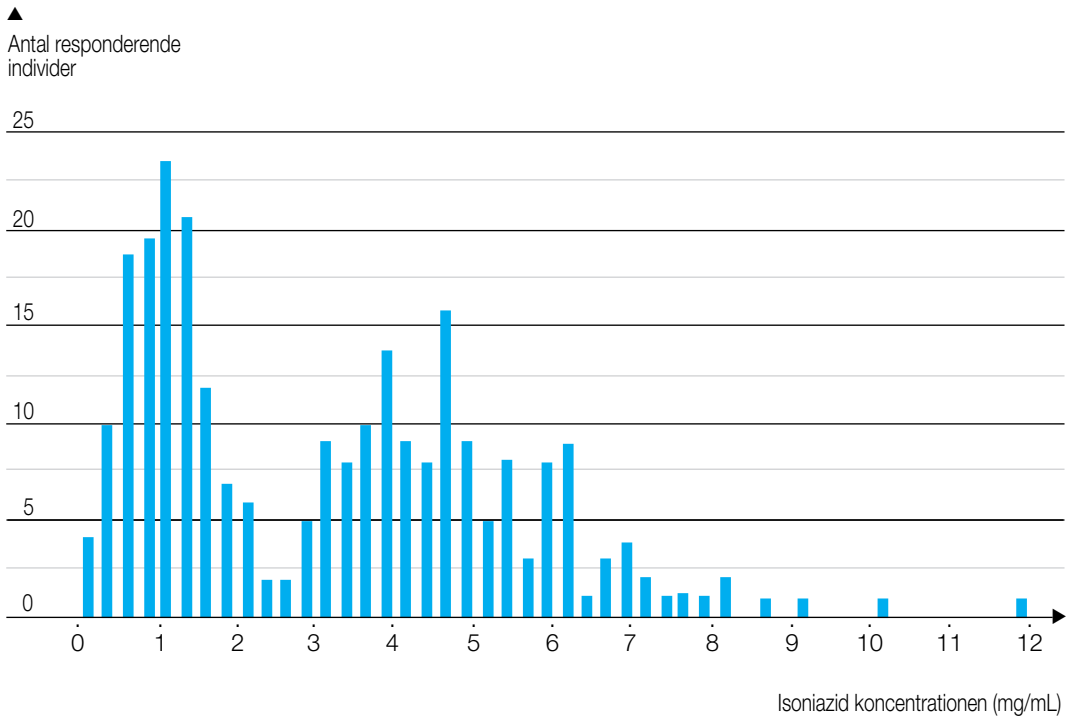
Dyreart	Konjugation, % af total	
	Glucuronid	Sulfat
Kat	0	87
Menneske	23	71
Rotte	25	68
Kanin	46	45
Marsvin	78	17
Gris	100	0

Tabel 2.13. Phenols konjugation med glucuronsyre og sulfat.

Etnisk/genetisk variation

Etnisk/genetisk variation eller genetisk polymorfi er genstand for stigende opmærksomhed. Et kuriøst eksempel er forskellen i alkoholnedbrydningen hos hhv asiater og kaukasiere. Asiater har en "indbygget" antabusreaktion, hvis de indtager større mængder alkohol. Et andet eksempel er hastigheden, hvormed et individ er i stand til at acetylere fremmedstoffer, man taler direkte om "slow acetylators" og "rapid acetylators". Slow acetylators har større risiko for at få blærekræft, hvis de eksponeres for aromatiske aminer, mens rapid acetylators har større risiko for at få tyktarmskræft, hvis de eksponeres for pyrolyseprodukter i kosten, fx stegeskorpe.

Hvis man afbilder antal personer i en population som funktion af forholdet mellem lægemidlet isoniazid og dets acetyleringsprodukt, fordeles individerne i to grupper (fig. 2.17); man siger, at populationen udviser bimodal fordeling.



Figur 2.17. Genetisk polymorfi. Kurven angiver antal responderende individer som funktion af isoniazid plasmakoncentrationen.

Fysiologiske faktorer

Fysiologiske faktorer er af større eller mindre betydning. Kønsforskelle kommer sjældent i betragtning, hvorimod alder, ernæringstilstand og sundhedsstatus kan spille en væsentlig rolle.

Det er en fastslået kendsgerning, at organismens metaboliserings- og udskillelseskapalet falder med alderen, helt op til 50%.

Dårlig ernæringstilstand nedsætter mængden af mikrosomalt enzym, fordi enzymssystemet ikke indgår i opretholdelsen af vitale funktioner.

Ydre faktorer

Ved ydre faktorer forstås i denne forbindelse påvirkninger fra det omgivende miljø. Der kan være tale om så forskellige påvirkninger som kemikalier på arbejdspladsen (opløsningsmidler), luftbåren forurening (polycykliske kulbrinter), stoffer i levnedsmid-

ler og nydelsesmidler (additiver, stegemutagener, alkohol, tobaksrøg) samt lægemidler.

Enzyminduktion

Belastes organismen gennem længere tid med ovennævnte stoffer, induceres en lang række af de mikrosomale enzymer til at øge metaboliseringen ikke alene af det tilførte stof, men også af andre stoffer. Phenobarbital bruges eksperimentelt som induktor, og overforbrug af alkohol er en faktor, som skal tages i betragtning ved behandling med visse lægemidler. Dioxin, der dannes ved lavtemperaturforbrænding, er en kraftig induktor, som er mistænkt for at inducere nedbrydningen af østrogen til en kræftfremkaldende metabolit, der normalt kun dannes i ringe mængde. Enzyminduktionen indledes ved en reaktion mellem induktoren og et cellulært protein. Dette kompleks stimulerer kernens DNA til øget enzymsyntese.

Enzymhæmning

Enzymhæmning er ikke så kompliceret, men mekanismen kan være destruktion af enzymet, binding af enzymet eller substratkonkurrence mellem substrat og hæmmer. Piperonylbutoxid er et velkendt eksempel på en enzymhæmmer, der bindes til enzymet. Piperonylbutoxid anvendes i kombination med pesticidet pyrethrum, hvis nedbrydning hæmmes ved piperonylbutoxids binding til enzymet. Disulfiram (antabus) er et andet velkendt eksempel på et stof, hvis effekt beror på hæmning af et enzym, her aldehyddehydrogenase.

Toksiske metaboliseringsreaktioner

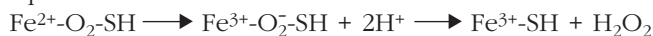
Fase I-reaktionen kan give anledning til dannelse af reaktive iltforbindelser.

Hvis reaktionsforløbet af en eller anden grund afkobles ved reaktion D eller E (fig. 2.16), dannes hhv superoxid eller hydrogenperoxid:

Superoxid:



Hydrogenperoxid:



Normalt vil både superoxid og hydrogenperoxid inaktiveres enzymatisk, men hvis større mængder dannes, kan kapaciteten overskrides. I så fald omdannes superoxid til hydrogenperoxid, der under medvirken af jern- eller kobberioner omdannes til det yderst reaktive hydroxylradikal:

Hydroxylradikal:



Situationen betegnes oxidativt stress og medfører lipidperoxidation, DNA- og proteinskader. Oxidativt stress kan dermed føre til såvel umiddelbar celledød som udvikling af kræft.

Oxidativt stress kan også initieres ud fra de dannede metabolitter. Flere stoffer vides at danne reaktive mellemtrin (intermediære) under deres metabolisering. Som eksempler kan nævnes plantebekæmpelsesmidlet paraquat, tetrachlormethan, chloroform, olieadditivet bromobenzen og lægemidlet paracetamol. De nævnte eksempler danner alle frie radikaler under deres metabolisering. Paraquat overfører en elektron til ilt under dannelse af superoxid, tetrachlormethan overfører en elektron til cellemembranens fedtsyrer under dannelse af lipidperoxider, og bromobenzen og paracetamol omdannes til et radikal, der ødelægger vævsproteiner. Alle reaktioner kan medføre alvorlige vævsødelæggelser.

I situationer, hvor en Fase I-reaktion giver anledning til dannelse af reaktive metabolitter, eller ved oxidativt stress reagerer glutathion med metabolitten eller med de reaktive iltmetabolitter og inaktiverer disse. Cellernes kapacitet for dannelse af glutathion er imidlertid begrænset, så høj aktivitet i Fase I-reaktionen, fx ved enzyminduktion eller ved oxidativt stress, kan medføre mangel på glutathion. Paracetamols hepatotoksiske egenskaber skyldes manglende inaktivering af en metabolit, der normalt bindes til glutathion (fig. 2.18).

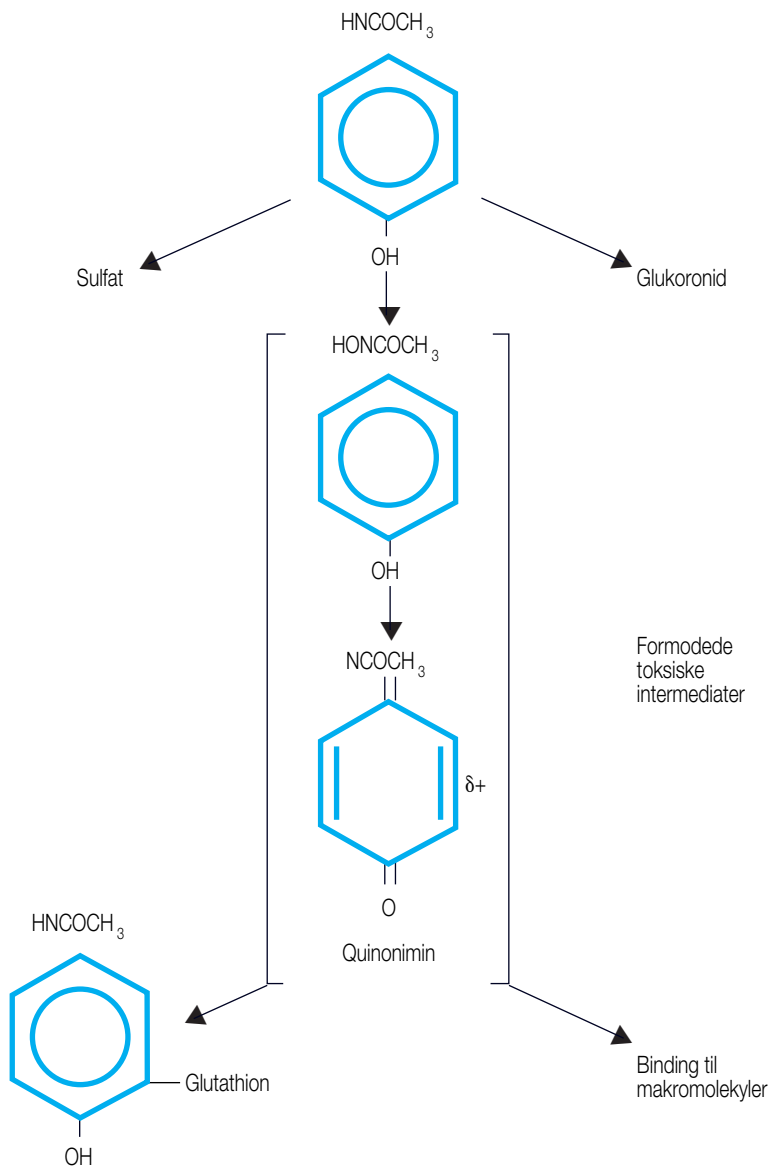
Biliær udskillelse

Udskillelse i galden er vigtig specielt for større ladede molekyler og for stoffer, der både er syrer og baser, og kan være den vigtigste eliminationsvej for sådanne forbindelser. Helt præcist, hvilke egenskaber der bestemmer, om et stof udskilles i urinen eller med galden, vides ikke, men molekylvægt og dyreart er to vigtige faktorer. Tabel 2.13 og tabel 2.14 viser hhv dyrearts og molekylvægts indflydelse på udskillelsen.

Tabel 2.14. Molekylvægt og forholdet mellem udskillelse i urin og galde.

Substans	Mol.vægt	% i urin	% i galde
Biphenyl	154	80	20
Monochlorbiphenyl	188	50	50
Dichlorbiphenyl	223	34	66
Pentachlorbiphenyl	326	11	89
Hexachlorbiphenyl	361	1	99

Figur 2.18. Paracetamols metabolisering.



Udskillelse med galden er overvejende en aktiv proces, der kan mættes, induceres og hæmmes kompetitivt. Hvis sekretion af galde hæmmes, kan et stofs giftighed øges væsentligt.

Et andet forhold, der påvirker et stofs kinetik, er, at det kan blive "fanget" i et kredsløb mellem tarm og lever, "det enterohepatiske kredsløb". Hvis et stof udskilles med galden enten som konjugat eller uomodannet, kan konjugatet spaltes mikrobielt i tarmen, og stoffet kan reabsorberes fra tarmen. Et sådant enterohepatisk kredsløb vil øge stoffets halveringstid.

Renal udskillelse

Renal elimination er den vigtigste ekskretionsmekanisme, idet både modersubstans og metabolitter kan udskilles i nyren.

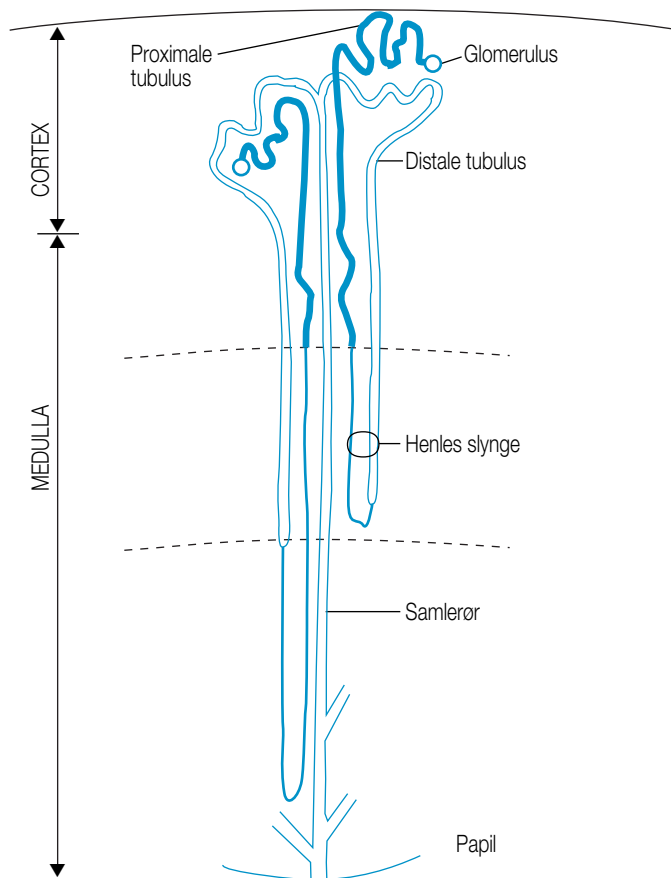
Eliminationen kan foregå ved filtration og ved sekretion.

Filtrationen drives af hjertets pumpetryk, mens sekretionen er en iltkrævende, aktiv proces.

Nyrens funktionsenhed nefronet er opbygget af fem funktionelle dele: glomerulus, der er et lille blodkar-nøgle, hvor udfiltreringen sker, og en serie rør, proximale tubulus, Henles slynge, distale tubulus og samlerør, hvor urinen opkoncentreres og udledes (fig. 2.19). Nefronet er lokaliseret i nyren, således at glomerulus befinder sig i den cortikale del (nyrebarken), mens Henles slynge går ned i marven. Nefronerne er placeret i flere lag, således at det inderste lag har Henles slynge placeret i nyrepapillen.

25% af hjertets minutvolumen passerer nyrerne, og ca 5% af

Figur 2.19. Diagram over nyrens funktionelle enheder.



plasmavolumen svarende til 125 mL udfiltreres i glomeruli pr minut som primærurin. Det svarer til ca 180 L primærurin pr døgn, men 98-99% af primærurinen reabsorberes.

Kapillærene i glomeruli er storporede og tillader molekyler med en molekylvægt på ca 60.000 at passere, og derfor vil praktisk taget alle fremmedstoffer filtreres ud. Stofferne bliver i urinen, medmindre de reabsorberes passivt eller (sjældent) aktivt. Reabsorptionen er en passiv diffusionsproces, og derfor vil lipofile stoffer kunne passere frit over membranerne i hele nefronet, mens ladede og/eller vandopløselige molekyler kun vanskeligt passerer membranerne. Da nyren fungerer som organismens pH-regulator, vil urinens pH afhænge af organismens syre-base status, og ioniserbare stoffers ekskretion vil derfor svinge med urinens pH. Forholdet mellem ioniseret og uioniseret form følger Henderson-Hasselbalch ligningen (formel nr. 3).

Af ligningen ses, at jo større forskel mellem pH og pK_a , jo større forskel mellem mængden af ioniseret og uioniseret form. Sker forskydningen mod ioniseret form, unddrages stoffet reabsorption. Princippet udnyttes terapeutisk i forgiftningsbehandlingen. Ved salicylsyreforgiftning gøres urinen alkalisk med natriumhydrogencarbonat, og da salicylsyre har en pK_a -værdi på ca 3,3, vil alkaliseringen af urinen til pH ca 8 fra den normale pH værdi på ca 6 øge fordelingsforholdet mellem ioniseret og uioniseret form med 10^2 .

Sekretionen spiller en betydelig rolle, idet nyren besidder sekretionsmekanismer for hhv organiske syrer og baser. Det er kun et stofs frie fraktion i plasma, der er genstand for ekskretion. Høj proteinbinding nedsætter filtrationen, mens sekretionen stort set er uafhængig af proteinbindingen, da ligevægten fritbundet stof indstiller sig hurtigt.

Sekretionen er en aktiv proces og kan derfor mættes og hæmmes kompetitivt. Kompetitiv hæmning bruges terapeutisk ved penicillinbehandling. Penicillin udskilles aktivt med høj hastighed, men kombineres penicillinbehandlingen med stoffet probenicid, nedsættes penicillins sekretion væsentligt, da penicillin og probenicid konkurrerer om sekretionsmekanismen.

Toksiske reaktioner

Nyrens funktion som eliminations- og homeostatisk organ er årsag til følsomheden over for toksiske fremmedstoffer, fordi:

- ◆ Nyrerne modtager 25% af minutvolumen, og deres udsættelse for toksiske fremmedstoffer er derfor høj.
- ◆ Nyrens koncentrationsevne betyder, at koncentrationen af fremmedstoffer i tubulis lumen bliver høj, op til en tubulus-væske/blod ratio på 500.

- ◆ Tubuluscellernes aktive sekretionssystemer kan medføre, at koncentrationen i tubuluscellen bliver meget høj, når et stof transporteres fra blod til tubulusvæske.
- ◆ Nyrecellerne har høj metabolisk aktivitet. Indholdet af Cyt. P450 i nyrecellerne er ikke så højt som i levercellerne, men dog tilstrækkeligt til, at der kan dannes uacceptabelt høje koncentrationer af reaktive metabolitter i nyrecellerne.

Glomeruli

Skaderne i glomerulus ytrer sig ved ændringer i filtrationshastigheden. Visse stoffer kan bindes med elektrostatiske kræfter til makromolekylerne i porerne, og oxidativt stress kan danne reaktive iltradikaler, der beskadiger glomerulicellerne, så porerstørrelsen stiger.

Proximale tubuli

Epitelet i proximale tubuli er i modsætning til epitelet i andre nefronfragmenter forholdsvis åbent, hvorved en række stoffer let trænger ind i tubuluscellerne. Vigtigere er måske det faktum, at sekretionen af anioner, kationer, glutathionkomplekser og tungmetaller finder sted her. Koncentrationen af disse stoffer når derfor let toksiske niveauer.

Ydermere er Cyt.P450-systemet lokaliseret til proximale tubuli med deraf følgende risiko for dannelsen af reaktive metabolitter. De nyreskader, der forårsages af tetrachlormethan, er derfor lokaliseret til proximale tubuli. Pga det høje energibehov til de sekretoriske mekanismer kan cellerne i proximale tubuli let beskadiges, hvis de udsættes for iltmangel.

Henles slynge

Toksiske skader ses sjældent i Henles slynge, men visse stoffer kan dog påvirke koncentrationsevnen ved hæmning af ATPase aktiviteten og cAMP-systemet (fluorid afgivet fra methoxyfluran).

Papilskader

Mekanismen bag papilnekrosen, som undertiden ses ved misbrug af svage smertestillende midler (acetylsalicylsyre og ibuprofen), kendes ikke fuldt ud, men radikaldannelse med efterfølgende binding til makromolekyler og en prostaglandin-afhængig karsammentrækning angives som mulige årsager.

Nyrernes store kompensationssevne mht opretholdelse af homeostasen betyder, at kemiske nyreskader først erkendes, når nyrerne svigter pga overbelastning af det endnu fungerende nyrevæv. Dertil skal dog siges, at nyrerne besidder rimelig høj regenerationsevne.

Pulmonal udskillelse

Letflygtige stoffer kan elimineres via lungerne. Ikke-metaboliserbare gasser (dampe) udskilles udelukkende ad denne vej, mens metaboliserbare gasser i større eller mindre grad også elimineres via lungerne (tabel 2.15).

Substans	% metaboliseret	% udåndet
Benzen	64	36
Toluen	82	18
m-Xylen	90	10
Styren	96	4
1,1,1-trichlorethan	3	97
1,1,2-trichlorethan	93	7
Trichlorethylen	75	25
Tetrachlorethylen	10	90

Tabel 2.15. Procentvis forhold mellem metaboliseret og udåndet opløsningsmiddel.

Eliminationprocessen via lungerne er den "spejlvendte" optagelsesproces. Afgiften fra blodet til luften i alveolerne afhænger af fordelingsforholdet blod/luft, og tilførslen af gassen fra organerne til blodet afhænger af fordelingsforholdet organ/blod og blodgennemstrømningen af de enkelte organer. Jo mindre fordelingsforholdet blod/luft er, og jo mindre lipidopløselig en gas er, desto hurtigere sker eliminationen. Gasser med stort fordelingsforhold blod/luft og stor lipidopløselighed, som fx diethylether, vil udskilles langsomt.

Flygtige stoffer optaget gennem huden eller i mave-tarmkanalen kan også elimineres via lungerne. Et eksempel herpå er ethylalkohol, som har et fordelingsforhold blod/luft på ca 2.000, hvilket dog bevirker, at hvis ethylalkohol alene blev elimineret via lungerne, ville halveringstiden være ca 10 døgn.

Udskillelse i mælken

Udskillelsen med mælk er vigtig af to grunde, dels fordi stoffer, og her især lægemidler, ved ringe kontrol kan forekomme i konsummælk, og dels fordi fremmedstoffer ved amning kan overføres fra mor til barn. Toksiske stoffer overføres til mælken ved diffusion, og fordi mælken har et lavere pH end plasma, vil især basiske stoffer kunne opkoncentreres i mælken. Pga mælkens høje indhold af lipider vil lipidopløselige stoffer som fx PCB, dioxiner og opløsningsmidler forekomme i modermælken. Også metaller som bly og kviksølv kan udskilles ad denne vej. Om amning er forsvarlig, vil være en afvejning af belastning af barnet med fremmedstof og fordelen ved amning.

Udskillelse i hud, hår, spyt og sved

Nogle fremmedstoffer som arsen, kviksølv og kokain kan påvises i hud, hår og negle, men eliminationen ad disse veje er uden betydning. Hår kan for nogle stoffers vedkommende, fx arsen, anvendes til at bestemme tidspunktet for en eventuel belastning, idet håret vokser ca 12,5 mm pr måned.

Udskillelse med spyt og sved er af ringe betydning. Toksiske stoffer udskilt i sveden kan fremkalde dermatitis. Stoffer udskilt i spytet kan reabsorberes i tarmen.

Kinetiske modeller

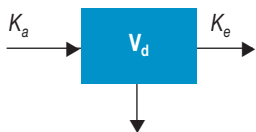
Ud over at beskrive et stofs absorption, fordeling og elimination omfatter toksikokinetikken også den matematiske beskrivelse af sammenhængen mellem de kvantitative og tidsmæssige forhold for stoffets skæbne i organismen.

Så snart organismen eksponeres for et stof, indgår absorptions-, fordelings- og eliminationsprocesserne i et dynamisk system. Dette er tidligere illustreret med Brodie-Gillettes kassemodel (fig. 2.11).

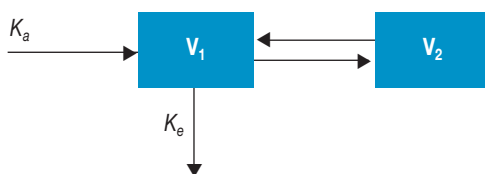
Den simpleste model er én-kompartiment modellen (fig. 2.20), hvor vi har en absorptionsproces, et område i organismen, hvor koncentrationen af stoffet er den samme, fx organismens vandfase, og en eliminationsproces.

Denne model kan udbygges til flerkompartiment modeller, som fx to-kompartiment modellen (fig. 2.21). Her har man foruden absorptions- og eliminationsprocesserne to områder med hver sin koncentration af stoffet. I denne model er der transport af stof mellem et centralt kompartiment (blod) og et perifert kompartiment (muskler, fedtvæv, knogler etc). I begyndelsen vil stoffkoncentrationen være størst i det centrale kompartiment, og der vil ske en transport af stof herfra til det perifere kompartiment, indtil der bliver ligevægt mellem de to områder afhængigt af stoffets fordelingsforhold. Imidlertid sker der til stadighed en elimination af stoffet fra det centrale kompartiment, således at dette

Figur 2.20. Én-kompartiment model.



Figur 2.21. To-kompartiment model.



kommer i "underskud" i forhold til det perifere kompartment, og der vil nu ske en transport af stof den anden vej.

Transportprocesserne, der primært foregår ved diffusion, og eliminationsprocesserne, der er filtrations- og enzymatiske processer, er 1.-ordens processer. Dvs, at der transporteres/elimineres lige store brøkdeler af stoffet pr tidsenhed angivet ved formel nr. 5:

$$\frac{dc}{dt} = -\text{konstant} \cdot C \quad (5)$$

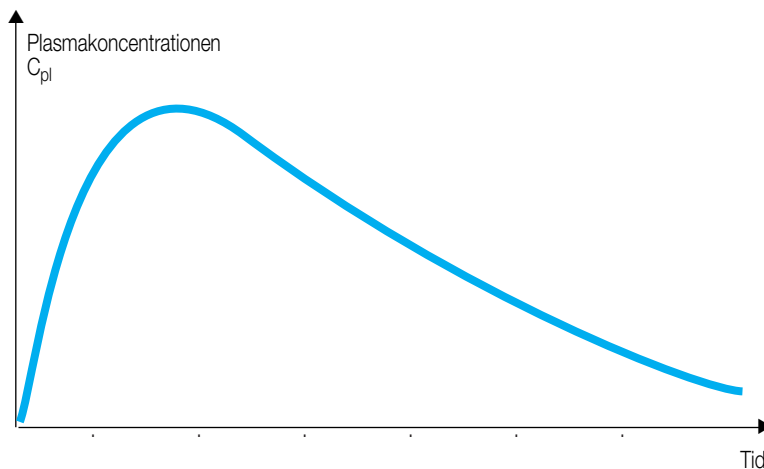
hvor C er koncentrationen af stoffet, og dC/dt er koncentrationsændringen pr tidsenhed.

Konstanten kaldes hhv absorptionshastighedskonstant k_a og eliminationshastighedskonstant k_e og angiver hhv, hvor stor brøkdel der absorberes/elimineres.

Overskrider man et vist koncentrationsniveau i organismen, så metaboliserings- og udskillelseskapaciteten overskrides, vil yderligere stigning i koncentrationen medføre en glidende overgang fra 1.-ordens kinetik til 0.-ordens kinetik, dvs at der metaboliseres lige store mængder af stoffet pr tidsenhed uafhængigt af koncentrationen.

For nogle stoffers vedkommende, fx ethanol, er metaboliseringsprocessen selv ved lavere koncentrationer en 0.-ordens reaktion.

Forholdene lader sig naturligvis lettest beskrive matematisk for en én-kompartiment model. Absorptions-, fordeling- og eliminationsprocesserne forløber samtidigt, men som det fremgår af fig. 2.22, kan man opdele blodkoncentrationskurven i to faser, hvor hhv den stigende del af kurven, absorptionsfasen, og den fallende del af kurven, eliminationsfasen, dominerer. I toksikolo-



Figur 2.22. Plasmakoncentrationen afsat som funktion af tiden efter indgift af stoffet i en enkelt dosis til tiden = 0.

gisk sammenhæng vil disse faser altid forekomme, mens man i medicinsk sammenhæng kan undgå absorptionsfasen ved anvendelse af intravenøs injektion. Når absorptionen er afsluttet, og man har en ren eliminationsfase, kan koncentrationsforløbet i organismen beskrives ved formlen

$$\ln C_t = -k_e t + \ln C_0 \quad (6)$$

der kan omskrives til udtrykket

$$C_t = C_0 \cdot e^{-k_e t} \quad (7)$$

hvor C_t er koncentrationen til tiden t , C_0 koncentrationen til tiden 0 og k_e eliminationshastighedskonstanten. Ønsker man at inddrage absorptionen i sine beregninger af forløbet af plasmakoncentrationen, vil udtrykket ændres til

$$C_t = C_0 \frac{k_a}{k_a - k_e} (e^{-k_e t} - e^{-k_a t}) \quad (8)$$

Den biologiske halveringstid

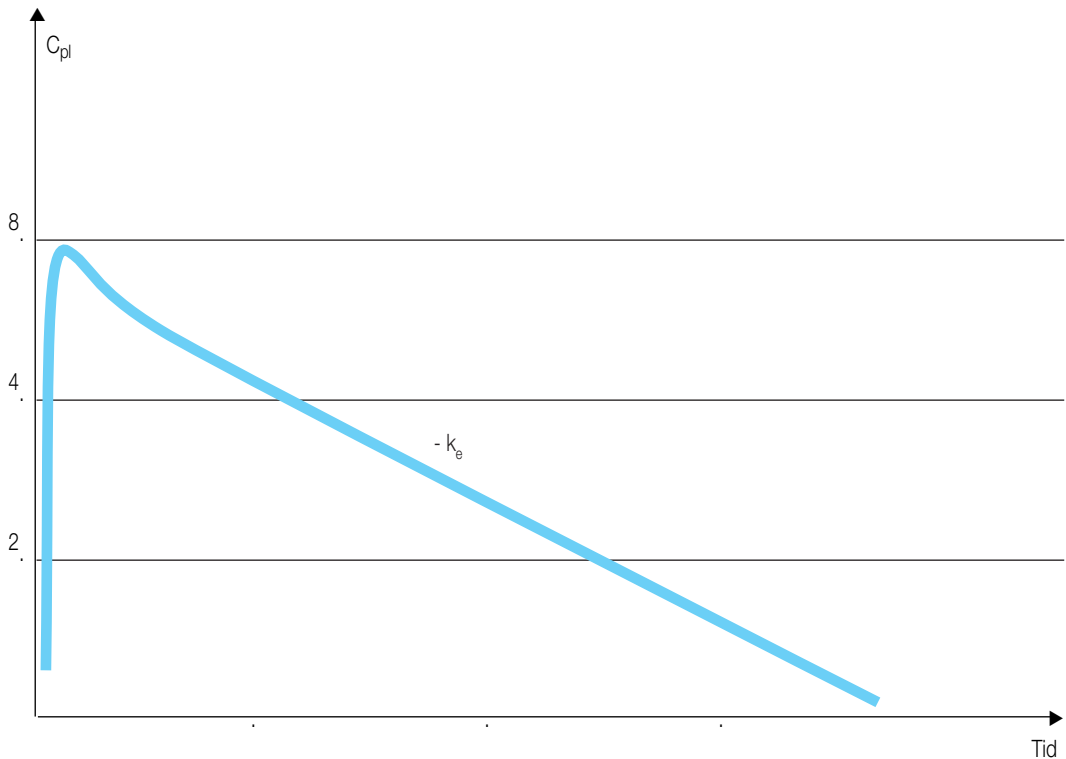
Som det ses, udtrykker formel nr. 6 den rette linie ($f(x) = \alpha x + b$). Indtegnes koncentrationsforløbet i et koordinatsystem med $\ln C$ som y-akse og tiden t som x-akse, fås en ret linie med k_e som hældningskoefficient (fig. 2.23). Den biologiske halveringstid kan let aflæses fra kurven eller beregnes ud fra udtrykket

$$t_{1/2} = \frac{\ln C_{pl_t} - \ln C_{pl_{t/2}}}{k_e} = \frac{\ln 2}{k_e} = \frac{0,693}{k_e} \quad (9)$$

hvor plasmakoncentrationen til tiden $t_{1/2}$ er det halve af plasmakoncentrationen til tiden t .

Den totale clearance

Da det kun er den frie fraktion i plasma, der elimineres, vil halveringstiden øges, jo mindre del af stoffet der findes som fri fraktion, dvs jo større fordelingsrum, jo langsommere elimination. Ved clearance forstås det blodvolumen, et eliminationsorgan, fx nyren, kan rense for stoffet pr tidsenhed. Man taler derfor om den renale clearance. Den totale clearance udtrykker summen af samtlige eliminationsprocesser, dvs lever, nyrer og andre andre eliminationsveje ($Cl_{total} = Cl_{lever} + Cl_{nyre} + Cl_{andet}$). Den totale clearance angiver den brøkdel af det tilsyneladende fordelingsrum, der pr tidsenhed renses for stoffet. Den totale clearance



Figur 2.23. Logaritmen ($\log C_{pl}$) afsat som funktion af tiden i et én-kompartment system.

kan beregnes ud fra formlen

$$Cl_{total} = k_e \cdot V_d = \frac{0,693 \cdot V_d}{t_{1/2}} \quad (10)$$

V_d står, som nævnt under fordeling, for det tilsyneladende fordelingsrum. V_d beregnes ud fra formel nr. 4, der er et specialtilfælde af formlen

$$V_d = \frac{F \cdot D \cdot e^{-k_e \cdot t}}{C_t} \quad (11)$$

hvor C_t er koncentrationen på et givet tidspunkt t .

Ved dosis (D) forstås i almindelighed den mængde stof, der er indtaget eller indåndet, men det er sjældent, at det optages 100%. Den brøkdel af stoffet, der optages, kaldes absorptionsfraktionen. Den stofmængde, der er absorberet, når imidlertid

ikke altid det systemiske kredsløb pga metabolisering. Dette gælder især ved absorption fra mave-tarmkanalen. Fænomenet kaldes "first pass" effekt, og summen af denne og absorptionsfraktionen kaldes stoffets biotilgængelighed, "F", som er lig én, hvis alt stoffet når det systemiske kredsløb.

Ved toksikologiske problemer kan det være vanskeligt at bestemme den aktuelt indtagne dosis. Selv ved dyreforsøg kan det være usikkert, fx hvis stoffet gives i foderet eller indåndes. Ligeledes kendes biotilgængeligheden sjældent. I tvivlstilfælde kan man forudsætte fuldstændig absorption og sætte $F = 1$.

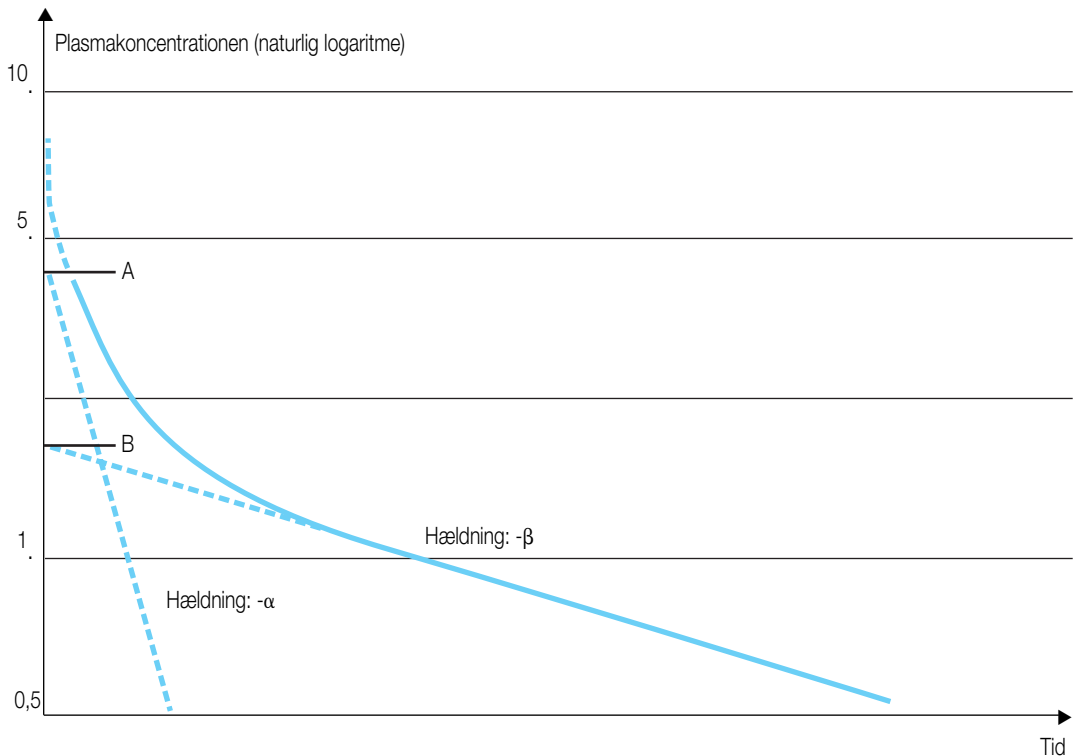
Hvis man afsætter blodkoncentrationen i et dobbelt aritmetrisk koordinatsystem (fig. 2.22), vil arealet under kurven (AUC) være et udtryk for den absorberede mængde. Administreres stoffet intravenøst, sættes den absorberede mængde til 100%, og F er derfor lig én. Sammenlignes AUC for denne kurve med AUC for en plasmakoncentrationskurve fra en anden administrationsform, fx via mave-tarmkanalen, kan man finde F for den pågældende administrationsform:

$$F = \frac{AUC_{\text{peroral}}}{AUC_{\text{intravenøst}}} (F \leq 1) \quad (12)$$

Ved indgift af stigende mængder af et stof vil AUC stige proportionalt med mængden, så længe eliminationsvejenes kapacitet ikke overskrides. Sker dette, fx hvis leverens metaboliseringskapacitet overskrides, vil AUC øges mere end forventet.

Som tidligere nævnt har man ved to-kompartiment modellen en transport mellem det centrale og det perifere kompartment, hvorfor fordelingsfasen må tages i betragtning ved beregningerne. Indsætter man plasmakoncentrationerne direkte i et semilogaritmisk system som ved én-kompartiment modellen, får man ikke en ret linie (fig. 2.24), men først en hurtigt faldende kurvedel, som primært er udtryk for fordelingsfasen, hvor stoffet fordeles til kompartment 2, og en mindre stejlt faldende kurvedel, som repræsenterer eliminationsfasen, hvor stoffet elimineres fra kompartment 1, som samtidig modtager stof fra kompartment 2 (se fig. 2.21).

Ved at ekstrapolere den sidste rette del af kurven tilbage til skæringspunktet B med y-aksen kan man opløse den oprindelige kurve i to rette kurveforløb, ved at vælge en række punkter på den ekstrapolerede kurve og trække deres værdier fra de tilsvarende værdier på den oprindelige kurve. Afsættes de fundne værdier i koordinatsystemet, fås en ret linie, hvis skæringspunkt med y-aksen betegnes A. De to rette linier repræsenterer hhv fordelingsfasen og eliminationsfasen. Hældningen på de to rette linier kaldes hhv α og β .



I to-kompartiment systemet er ikke blot k_e , men også hastighedskonstanterne for transport mellem de to kompartimenter bestemende for eliminationshastigheden. Udtrykket for den biologiske halveringstid er derfor

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{\beta} \quad (13)$$

Halveringstiden kan naturligvis også aflæses direkte på den sidste del af kurven. På samme måde kan man beregne halveringstiden for fordelingsfasen, idet denne er

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{\alpha} \quad (14)$$

Udtrykket for plasmakoncentrationen i eliminationsfasen bliver derfor

$$\ln C_t = \beta t + \ln C_B \quad (15)$$

Den totale clearance findes af udtrykket:

$$Cl_{total} = \beta \cdot V_{dAUC} \quad (16)$$

Figur 2.24. Logaritmen til plasmakoncentrationen ($\log C_p$) afsat som funktion af tiden i et to-kompartiment system.

hvor $V_{d_{AUC}}$ betyder, at V_d er beregnet ud fra AUC:

$$V_{d_{AUC}} = \frac{D \cdot F}{\beta \cdot AUC} \quad (17)$$

AUC beregnes ud fra formlen:

$$AUC = \frac{A}{-\alpha} + \frac{B}{-\beta} \quad (18)$$

Ved analyse af fler-kompartiment modeller, som fx tre-kompartiment modellen, er fremgangsmåden den samme som for to-kompartiment modellen. De fundne plasmakoncentrationer indsættes i et semilogaritmisk system, og kurveforløbet opløses som ved to-kompartiment modellen i rette linier.

Jo flere kompartiments, man opløser sin kurve i, jo mere komplicerede bliver beregningerne.

I arbejdsmæssige sammenhænge udsættes man ofte for flere på hinanden følgende doser over længere tid. Har stoffet ikke en meget kort biologisk halveringstid, vil koncentrationen i organismen stige, og på et eller andet tidspunkt vil man nå en tilstand, hvor der er ligevægt mellem den optagne og den udskilte mængde - det såkaldte steady state niveau. Drejer det sig om en kontinuerlig administration af stoffet, kan steady state situationen udtrykkes ved:

$$\frac{M}{T} = C_{ss} \cdot Cl_{total} \quad (19)$$

hvor M/T er administreret mængde pr tidsenhed, og C_{ss} er plasmakoncentrationen i ligevægtssituationen. Plasmakoncentrationen bliver således ved steady state

$$C_{ss} = \frac{M}{T \cdot Cl_{total}} \quad (20)$$

Kontinuert administration har mest teoretisk interesse, idet administrationen normalt sker som enkeltdoser, evt som en dosis fordelt over dele af en arbejdsdag.

M/T erstattes da af $(D \cdot F)\tau$, hvor D er den indgivne dosis, F er biotilgængeligheden, og τ er tidsintervallet mellem de enkelte doser. Plasmakoncentrationen i steady state bliver derfor

$$Cl_{ss} = \frac{D \cdot F}{\tau \cdot Cl_{total}} \quad (21)$$

Da

$$Cl_{total} = k_e \cdot V_d = \frac{0,693 \cdot V_d}{t_{1/2}} \quad (22)$$

kan formelen skrives som

$$C_{ss} = \frac{D \cdot F}{\tau \cdot k_e \cdot V_d} = \frac{D \cdot F \cdot t_{1/2}}{\tau \cdot 0,693 \cdot V_d} \quad (23)$$

Formlen kaldes van Rossums formel.

Indgives lige store doser med samme tidsinterval, vil der efter en halveringstid være 50% af stoffet tilbage i organismen, efter to halveringstider 75%, efter tre 87,5% osv, således at man efter seks halveringstider når 98,5% af steady state niveauet. Dette betyder, at ved ændring af dosis eller halveringstid vil det tage seks halveringstider, inden et nyt steady state niveau er nået. Inden steady state niveauet er indtrådt, kan man beregne den brøkdelen (f) af C_{ss} , man har på et givet tidspunkt (t), ud fra formlen

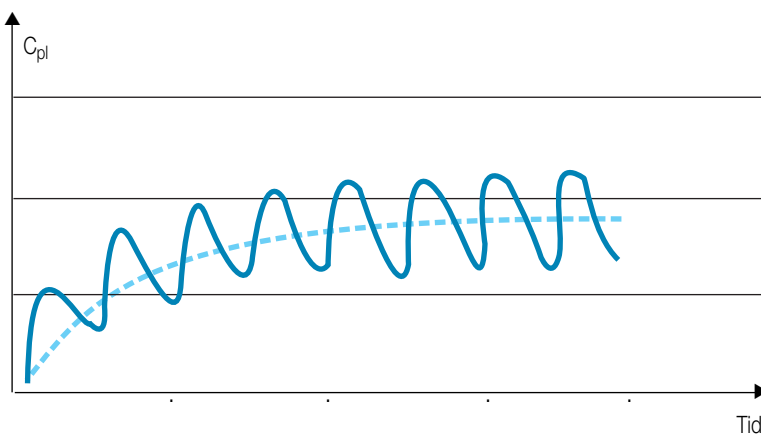
$$f = 1 - e^{-k_e t} \quad (24)$$

Da $f = C_t / C_{ss}$, kan steady state niveauet beregnes ud fra plasmakonzentrationen på tidspunktet t .

De nævnte udtryk gælder for en én-kompartiment model. For en to-kompartiment model får de følgende udseende:

$$C_{ss} = \frac{D \cdot F}{\tau \cdot Cl_{total}} = \frac{D \cdot F}{\tau \cdot \beta \cdot V_d \cdot AUC} = \frac{D \cdot F \cdot t_{1/2}}{\tau \cdot 0,693 \cdot V_d \cdot AUC} \quad (25)$$

C_{ss} er middelpasmakonzentrationen ved steady state, men ved administration af en dosis vil plasmakonzentrationen blive større end C_{ss} for derefter at falde til under C_{ss} . Ved næste dosering stiger koncentrationen igen over C_{ss} , falder igen osv (fig. 2.25).



Disse udsving omkring middelpasmakonzentrationen kan med grov tilnærmelse beregnes ud fra udtrykket

Figur 2.25. Plasmakonzentrationen afsat som funktion af tiden ved gentagen dosering.

$$U = C_{ss} \pm \frac{1}{2} \frac{D \cdot F}{V_d} \quad (26)$$

Udtrykket gælder kun for intravenøs indgift, ved alle andre former for indgift vil udsvingene blive mindre.

Som det fremgår af ovennævnte formler, er kinetikken udtryk for dynamiske ligevægte, hvor input og output tilstræber en ligevægt. Ved fortsat dosering vil organismen altid nå til et ligevægtsstadium; problemet er blot, når dette ligevægtsstadium, inden der viser sig toksiske symptomer? Med den stigende anvendelse af kemikalier vil specielt interaktionsproblematikken blive mere og mere påtrængende. Gensidig konkurrence om eliminationssystemerne nedsætter clearance, og plasmakonzentrationen vil stige, jf van Rossums formel. Den øgede plasmakonzentration vil øge konkurrencen om eliminationen yderligere, og man er inde i en ond cirkel.

Litteratur

- Andersen ME. Recent advances in methodology and concepts for characterizing inhalation pharmacokinetic parameters in animals and man. *Drug Metabol Rev* 1982; 13:799-826.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG. *Medical toxicology, Diagnosis and treatment of human poisoning*. New York: Elsevier Science Publ, 1988.
- Klaassen CD (ed). *Casarett and Doull's Toxicology, the basic science of poisons*. (5. udg) New York: McGraw-Hill, 1996.
- Niesink RJM, de Vries J, Hollinger MA. *Toxicology, principles and applications*. Boca Raton: CRC Press, 1996.
- Snipes MB. Long-term retention and clearance of particles inhaled by mammalian species. *Crit. Rev Toxicol* 1989; 20:175-211.
- Timbrell JA. *Principles of biochemical toxicology* (2. udg). Bristol: Taylor & Francis Ltd. 1991.

KAPITEL 3

Dyreforsøg

*Otto Meyer
Jens-Jørgen Larsen*

Dyreforsøg

Resultater fra toksikologiske undersøgelser indgår i den sundhedsmæssige vurdering af kemiske stoffer på en lang række områder, herunder lægemidler, levnedsmiddel-tilsætningsstoffer, bekæmpelsesmidler, nye levnedsmidler, og risiko i arbejdsmiljømæssig sammenhæng.

Toksikologiske data kan komme fra undersøgelser på mennesker, fra såkaldte reagensglasmetoder eller fra dyreeksperimentelle undersøgelser.

Egentlige eksperimentelle undersøgelser på mennesker til belysning af kemiske stoffers eventuelle skadevirkninger er kun tilladt i meget få tilfælde og kun til begrænsede formål. Når man taler om undersøgelser på mennesker, refererer man oftest til befolkningsundersøgelser, de såkaldte epidemiologiske undersøgelser. Sådanne undersøgelser har den fordel, at resultaterne kan anvendes uden hensyntagen til eventuelle artsforskelle. Befolkningsundersøgelser er store og kostbare undersøgelser, der desværre ofte kun i ringe grad kan afsløre en klar årsagssammenhæng. Egentlige toksikologiske data fra befolkningsundersøgelser findes kun i begrænset omfang. Udviklingen bl.a. inden for elektronisk databehandling har dog øget mulighederne for anvendelse af epidemiologiske undersøgelser, således at man kan håndtere store datamængder fra befolkningsgrupper af tilstrækkelig størrelse til at opnå pålidelige resultater. Ydermere vil udviklingen af følsomme analysemetoder og brugen af biologiske markører øge muligheden for anvendelsen af humane data.

Reagensglasmetoder, de såkaldte *in vitro* metoder, hvor eksempelvis enkeltceller, cellekomponenter eller organer anvendes, er i stadig udvikling. Sådanne undersøgelser har dog den begrænsning, at de ikke inkluderer det biologiske samspil, der findes i den intakte organisme. En række metoder, også med anvendelse af "ikke-pattedyrsystemer", anvendes i dag i begrænset omfang

inden for toksikologien. Man forventer ikke i den nærmeste fremtid, at in vitro metoder vil få en mere fremtrædende rolle i den toksikologiske vurdering, selvom mange ressourcer er sat ind på at udvikle nye metoder og udforske disse metoders anvendelsesmuligheder.

Toksikologiske data, der indgår i den sundhedsmæssige vurdering, vil således i overvejende grad stamme fra dyreeksperimentelle undersøgelser.

Ekstrapolation fra dyr til mennesker

En forudsætning for at anvende resultater fra dyreeksperimentelle undersøgelser i den humantoksikologiske vurdering er, at resultater opnået i en dyremodel kan forudsige effekter hos mennesker. Med andre ord: Er det muligt at ekstrapolere fra dyr til mennesker?

Grundlaget for, at man kan anvende dyreeksperimentelle resultater i den sundhedsmæssige vurdering, er, at organismens anatomiske opbygning og de fysiologiske forhold som cellernes struktur og biokemi er sammenlignelige dyr og mennesker imellem. Eksempelvis er der en slående lighed imellem dyrearter inklusive mennesket i cellemembranernes opbygning af lipoprotein, der har betydning for optagelsen af fremmedstoffer, og i cellernes energiomsætning. Tillige viser erfaringerne opnået gennem mange års anvendelse, at der er en god forudsigelighed af de toksikologiske undersøgelser på dyr. Således findes der opgørelser baseret på data fra eksperimentelle undersøgelser og befolkningsundersøgelser inden for områderne kræftfremkaldende effekt og fosterskader, der viser god overensstemmelse mellem fund på dyr og hos mennesker. Det drejer sig om fund i en eller flere laboratoriedyrearter, dog uden at der nødvendigvis er tale om, at en specifik type af kræft eller fosterskader fundet i forsøgsdyr er den samme som den, der er påvist hos mennesker.

Selvom der er et godt grundlag for at antage, at data fra dyreeksperimentelle undersøgelser kan give et billede af, hvad der sker hos mennesker, skal der dog altid tages højde for eventuelle artsforskelle i reaktionsmønsteret. Tillige er der ud over den kvalitative ekstrapolation, dvs om data fra dyr kan forudsige noget om en eventuel effekt hos mennesker, også den kvantitative vurdering, nemlig ved hvilken dosis/eksponering en eventuel effekt opstår.

Det er påvist, at adskillige biologiske parametre, herunder parametre for optagelse, omsætning og udskillelse af kemiske

stoffer (toksikokinetik), er betinget af legemsvægten både hos dyr og mennesker. En ønskelig forudsætning for en toksikologisk vurdering vil være, at der foreligger toksikokinetiske data, herunder data for bioaktivering (aktivering i organismen) og cytotoxicitet (giftvirkning i cellen), i det eller de væv, der udgør målorganet både i den anvendte dyreart og hos mennesker. Sådanne data kan bruges til at bedømme, om stoffet virker ens i de to arter, og danne grundlag for en vurdering af dosisforhold. Da man næsten aldrig er i besiddelse af sådanne data, har man valgt at operere med en såkaldt sikkerhedsfaktor, der i mangel af viden skal tage højde for de forskelle i følsomhed, der kan være såvel inden for arterne som mellem arterne. En sådan faktor anvendes til ud fra den højeste dosis, der ikke gav observerbar skadelig effekt i de eksperimentelle undersøgelser, No Observed Adverse Effect Level (NOAEL), at fastsætte den eksponering, der giver en acceptabel sikkerhed hos mennesker. En faktor på 100 har været den hyppigst anvendte. Oprindeligt var tallet 100 et noget tilfældigt valg, men gennem årene er der opbygget en erfaring, der viser, at denne faktor i en vis udstrækning er videnskabeligt funderet og har givet den tilsigtede sikkerhed for mennesker.

Oftest angives dosis i dyreforsøg i mg pr kg legemsvægt pr dag, men nogle data peger på, at en dosis angivet i mg/m² overflade pr dag giver et bedre grundlag for at sammenligne følsomheden for en eksponering mellem dyrearter inklusive mennesker. Således kan der være en forskel i vurderingen på op til 10, når eksempelvis menneskers eksponering fastsættes ud fra en dosis anvendt på mus, afhængigt af, om dosis angives på basis af legemsvægt eller legemsoverflade. Med andre ord kan en sikkerhedsfaktor i visse tilfælde vise sig at være 10 gange lavere, når vurderingen foretages på grundlag af en dosis udtrykt i forhold til legemsoverfladen.

På spørgsmålet, om det er muligt at ekstrapolere resultater fra dyr til mennesker, må svaret være, at det er det. Således er der både et videnskabeligt og erfaringsmæssigt grundlag for at antage, at dyremodeller i meget stor udstrækning kan give en viden om, hvordan den menneskelige organisme vil reagere på et kemisk stof. Det vil med andre ord sige, at det er videnskabeligt retfærdiggjort at anvende undersøgelser på forsøgsdyr i den sundhedsmæssige vurdering for mennesker. Men er det også etisk acceptabelt?

Dyreetiske hensyn

Anvendelse af forsøgsdyr giver anledning til etiske overvejelser. Det kan ikke udelukkes, at dyreeksperimentelle undersøgelser medfører ubehag for de anvendte forsøgsdyr, uanset hvilke foranstaltninger man måtte iværksætte for at forebygge eller reducere dette. På den anden side kan dyreeksperimentelle undersøgelser give en viden, der er af vital betydning for både dyrs og menneskers sundhed.

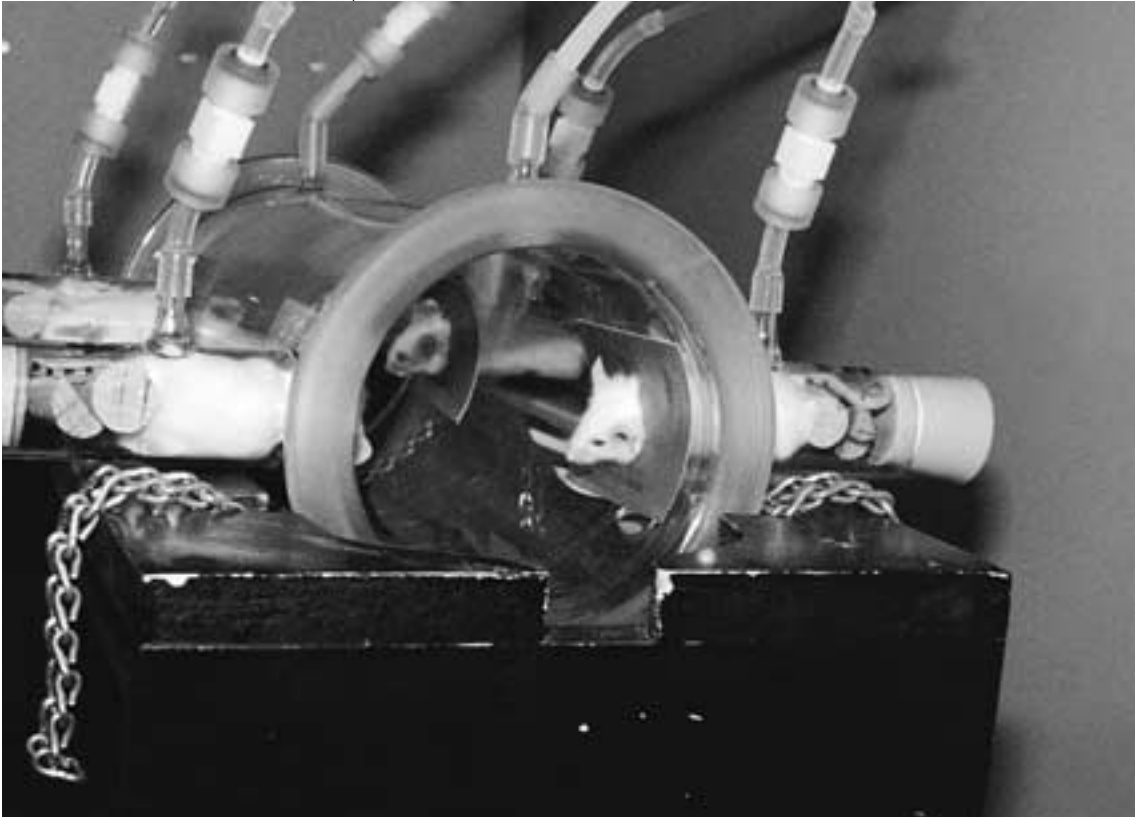
Således står man i et etisk dilemma. Det afspejles i samfundets holdning til dyreeksperimentelle undersøgelser, der spænder lige fra ekstreme anti-dyreforsøgsholdninger til den holdning, at forsøgsdyr altid kan anvendes, når vi mennesker finder det aktuelt. Den overvejende holdning i samfundet er, at anvendelse af forsøgsdyr kan accepteres under visse omstændigheder.

Dette afspejles i den nationale og internationale lovgivning, der angiver betingelserne for at anvende dyr i eksperimentelle undersøgelser. Således er det ikke lovligt at gennemføre dyreeksperimentelle undersøgelser, hvor forsøgsdyret udsættes for svære lidelser, uanset formål. Dyreeksperimentelle undersøgelser i det hele taget kan kun accepteres, hvis disse tjener et formål mhp at forbedre dyrs og menneskers sundhedsmæssige vilkår. Det gælder fx forebyggelse af smerter, når der foreligger den situation, at en sådan viden ikke kan opnås uden brug af dyr eller på andre måder, der indebærer mindre lidelse for forsøgsdyrene.

Således skal man altid overveje valget af forsøgsdyr mhp at anvende den dyreart, der påføres mindst lidelse (laveste grad af neurofysiologisk følsomhed), samtidig med at et tilfredsstillende svar på det stillede spørgsmål kan opnås. Dette sidste viser tillige, at de videnskabelige og etiske overvejelser ikke skal vurderes separat. Bestræbelserne på at undgå brug af dyr, nedsætte antallet af anvendte forsøgsdyr eller "raffinere" undersøgelsesmetodikken må aldrig kunne føre til dårlig videnskab, da der ville kunne opstå den etisk uacceptable situation, at undersøgelsen er utilstrækkelig, og at forsøgsdyrene hermed er brugt forgæves.

Som det fremgår, giver nationale og internationale love mulighed for, at forsøgsdyr under kontrollerede betingelser kan anvendes i undersøgelser af forskellig art mhp at vurdere sundhed for mennesker og dyr. Det er op til de ansvarlige personer, som af justitsministeren er godkendt til at udføre dyreforsøg, at sørge for, at forsøgene lever op til kravene i disse love, samt at overveje alle de muligheder, der er, for til enhver tid at forbedre forholdene for de anvendte forsøgsdyr, så de påføres mindst mulige gener i undersøgelsen. Overvejelser mhp at opnå optima-

De betingelser for forsøgsdyrene er et selvfølgeligt element i planlægningen af dyreeksperimentelle undersøgelser og vil føre til bedre videnskabelig kvalitet af forsøgene og de fremkomne resultater.



Figur 3.1. Mus er det mest anvendte forsøgsdyr. Billedet viser fire mus i et inhalationskammer, hvor effekten af irritative stoffer på lungeventilationen måles. (Foto: Gunnar Damgaard Nielsen, Arbejds miljøinstituttet).

Dyremodeller

Når dyr anvendes som forsøgsdyr i undersøgelser, er det som modeller (man taler om dyremodeller) dels for dyrearten generelt, dels som modeller mhp at vurdere situationen hos mennesker. Man kan opstille tre hovedtyper af dyremodeller:

- ◆ En levende organisme med en arvelig eller naturligt erhvervet sygdom eller patologisk proces, der eksempelvis i flere henseender ligner en tilsvarende lidelse hos mennesker.
- ◆ En levende organisme, hvori der induceres en ændring i den normale tilstand for en eller flere parametre.
- ◆ Transgene dyr, hvor der er induceret en specifik arvelig egenskab ved genmanipulation. Her kan man i modsætning til dyremodellerne under punkt 1 bryde artsbarrierer.

Dyremodeller for mennesker kan give en mere eller mindre stærk formodning om, hvad der kan ske hos mennesker, men undersøgelsesresultaterne skal altid vurderes med det for øje, at der er tale om modeller, og at ingen enkelt dyremodel nogensinde med garanti kan modsvare en lidelse hos mennesker.

I princippet kan alle dyrearter anvendes som forsøgsdyr, men i praksis anvendes kun et begrænset antal arter. Valget af dyreart har gennem årene bl.a. været bestemt af praktiske forhold såsom størrelse, avlsbetingelser og økonomi. Tillige har kendskabet til dyrene, opnået gennem årene, været bestemmende for valg af forsøgsdyrsart. Oftest deler man forsøgsdyrene i gnavere og ikke-gnavere. Inden for den førstnævnte gruppe er der fortrinsvis tale om mus og rotter, men marsvin og hamstere har også været hyppigt anvendt. Generelt for disse gnavere er, at de har en relativt kort levetid (nogle få år med undtagelse af marsvin, der kan opnå en alder på ca 8 år), at de er lette at avle, at de har stor formeringsevne, og at det er praktisk muligt at huse dem i et til forsøget tilstrækkeligt antal. For gruppen af ikke-gnavere har hunden været den mest brugte dyreart. Det forhold, at hunde også er populære kæledyr, samt at man i de senere år har udviklet minigrisen til en anvendelig forsøgsdyrsart, har været medvirkende til, at grisen vinder forholdsvis større indpas i toksikologien som det første valg af en ikke-gnaver. Aber har kun været brugt inden for toksikologien i et meget begrænset antal og som oftest kun i specielle tilfælde, hvor data fra andre undersøgelser har vist, at brugen af denne dyreart har været nødvendig. Kaniner er også hyppigt anvendte i visse toksikologiske undersøgelser, herunder undersøgelser for fosterskader, hvor kaninen henregnes til gruppen af ikke-gnavere. Der er dog stadig diskussion om det rigtige i at adskille haredyrenes orden (Lagomorpha) fra gnavernes orden (Rodentia).

Generelt må det slås fast, at der ikke findes én ideel dyremodel, der kan anvendes til alle toksikologiske undersøgelser foretaget mhp at vurdere forholdene hos mennesker. Jo flere dyrearter, der er testet, jo større er imidlertid muligheden for at kunne sige noget om risikoen for effekter hos mennesker, uden at det

Tabel 3.1. Samlet antal dyr anvendt til dyreforsøg i 1996 iht oplysninger fra Dyreforsøgstilsynet.

Forsøgsdyr	Mus	Rotter	Marsvin	Andre gnavere
A. Adfærds-/stressundersøgelser	22.778	16.128	200	0
B. Biologiske kontrolundersøgelser	39.766	28.950	5.410	27
C. Dermatologiske undersøgelser	2.318	252	498	0
D. Ernærings-/stofskeftundersøgelser	47	1.187	10	0
E. Farmakodynamiske undersøgelser	54.695	19.830	221	331
F. Farmakokinetiske undersøgelser	1.045	5.792	0	0
G. Fysiske påvirkninger	663	100	1	0
H. Immunologiske undersøgelser	18.487	1.421	2.426	0
I. Infektionspatologiske undersøgelser	6.760	73	97	5
J. Klimaundersøgelser	0	0	0	0
K. Organfunktionsundersøgelser	2.098	10.326	16	155
L. Toksikologiske undersøgelser	5.598	5.416	2.695	170
M. Tumorinduktion/transplantation	16.646	1.263	86	20
N. Andre	23.489	1.573	552	17
<i>I alt</i>	194.390	92.620	12.212	725

1) Omfatter hovedsagelig pelsdyr.

2) Omfatter hovedsagelig fisk.

dog hermed skal forstås, at man blot skal teste løs på en lang række dyrearter. En sådan fremgangsmåde vil være både videnskabeligt og etisk uacceptabel.

Valg af dyreart vil, ud over hvad der tidligere er nævnt, endvidere være baseret på allerede opnåede resultater fra denne dyreart og den viden, man i øvrigt har om det kemiske stof, der skal undersøges. Dog findes der nogle generelle eksempler på specifikke forhold for de enkelte dyrearter. Eksempelvis besidder hunden og rotten den mest effektive galdeudskillelse. Gnavere har den mest gennemtrængelige placenta sammenlignet med mennesket pga den fungerende blommesækplacenta i den første halvdel af drægtigheden. Endvidere er huden mindre gennemtrængelig hos mennesker end hos de fleste forsøgsdyr. Hvad omsætning af kemiske stoffer angår (metabolisme), kan nævnes, at katte har en ringe kapacitet til glukoronsyrekonjugering, at hunde har en tilsvarende lav kapacitet, når det drejer sig om acetylering af kemiske stoffer, mens grisen er tilsvarende dårlig til sulfatkonjugering.

Inden for de enkelte dyrearter findes der undergrupper. Man taler om dyrestammer, der hver især besidder specifikke egenskaber, der i høj grad vil være bestemmende for anvendeligheden som dyremodel i de forskellige toksikologiske undersøgel-

Kaniner	Geder/ får	Kvæg	Andre ¹⁾	Fugle	Andre hvirveldyr ²⁾	I alt
0	0	0	103	15	0	39.526
2.239	0	51	531	0	20	77.346
0	0	0	172	0	0	3.240
281	0	164	270	630	0	2.801
1.074	30	90	0	0	0	76.634
24	0	3	0	0	0	7.205
10	0	3	0	0	0	809
2.863	84	9	50	201	3.000	28.978
104	12	81	173	1.050	2.397	11.823
0	0	0	0	7.200	0	7.200
212	43	11	0	38	802	15.747
796	0	0	0	0	2.040	17.608
0	0	0	0	0	6	18.021
226	0	144	0	213	16.339	43.242
7.829	169	556	1.299	9.347	24.604	350.180

ser. De enkelte stammer repræsenterer forskellig genetisk baggrund. Der findes mange dyrestammer med specifikke egenskaber specielt inden for gnavere, ligesom introduktionen af genteknologien har resulteret i mange nye typer transgene dyr. Mht den genetiske baggrund opererer man som oftest med to hovedgrupper, udavlsstammer og indavlsstammer.

Udavl skal sikre, at populationens karakteristika holdes konstante, ved at den genetiske heterogenicitet opretholdes. Dvs at man bibeholder dyrenes egenskaber ved at bevare mangesidigheden i dyrenes arvemateriale. Det anses for ønskeligt, at dyrene viser en bred reaktionsprofil, selvom dette vil kunne medføre en betydelig spredning inden for de målte parametre. Den genetiske heterogenicitet vil kun kunne bevares, når der anvendes et meget stort antal avlsdyr. Er dette ikke tilfældet, vil der forekomme en vis grad af indavl, der kan medføre forskelle i den genetiske baggrund for en dyrestamme, alt efter hvilken avler der er tale om. Ud over en indavlsdrift er der også et vist selektionspres, der menes at være medvirkende til ændringer i dyrestammernes genetiske baggrund. Således har der i de seneste år været problemer med forekomsten af såkaldte normallidelser, såsom hyppighed af kræft og nedsat overlevelse med en række udavlsstammer (fx visse Sprague Dawley og Wistar rotter). Dette

har givet problemer med at gennemføre undersøgelser for kræftfremkaldende effekt efter de internationalt accepterede metodeforskrifter.

Tillige er der over de sidste ca 20 år set en øget kuld størrelse i Wistar rotten. Årsagen til disse ændringer menes at skulle søges i avlernes bestræbelse på at øge rentabiliteten af deres avl ved at udvælge de dyr, der er mest effektive i avlen, og som har den bedste vækst. Det sidste har sammen med fodringen resulteret i tungere dyr med nedsat overlevelse og større sygdomshyppighed til følge.

Indavl giver en høj grad af homozygoti, der medfører større grad af ensartethed mellem individerne og hermed en mindre spredning inden for målte parametre. Problemer med indavl kan være indavlsdepression, der bl.a. kan medføre ringere fertilitet og færre unger pr kuld.

Ud over specielle dyrestammer, herunder udviklingen af transgene dyremodeller til specifikke formål, anvendes både ind- og udavlsstammer i de toksikologiske undersøgelser. Der har gennem årene været megen diskussion om rigtigheden af at anvende enten udavls- eller indavlsstammer, og forslag har været fremme om at anvende samme antal dyr som ved brug af eksempelvis udavlsstamme, men fordelt på 2-3 indavlsstammer i den enkelte undersøgelse. Et rigtigt valg af ind- eller udavlsdyr kan ikke foretages ud fra generelle principper. Som oftest vil de enkelte laboratoriers valg være influeret af traditioner. Således anvendes en indavlet rottestamme (F-344) i de store NTP-undersøgelser i USA (National Toxicology Programme), mens andre laboratorier, bl.a. Institutet for Toksikologi i Danmark, bruger Wistar rotter (udavlsstamme).

Mikrobiologisk status

Mange forhold vedrørende forsøgsdyrene og deres omgivende miljø samt samspillet herimellem har betydning for resultatet af de toksikologiske undersøgelser. Når det gælder mikrobiologisk kvalitet i forbindelse med anvendelse af forsøgsdyr, taler man om tre niveauer.

Der er tale om konventionelle dyr, hvor der ikke er taget nogen egentlige mikrobiologiske forholdsregler ud over at sørge for, at dyrene huses på den for dyrearten acceptable måde, samt i større eller mindre udstrækning at hindre smitte fra vildtlevende artsfæller.

Ved anvendelse af den såkaldte isolatorteknik, hvor smittevejen fra moder til afkom kan brydes for den smitte, der ikke måtte finde sted over placenta (moderkagen), kan man opnå dyr

med SPF-status (Specificeret Patogen Fri), der er fri for en række nærmere definerede sygdomme. Arbejdet med SPF-dyr stiller krav til forsøgsdyrsfaciliteterne, herunder foder og vand med mere, så dyrenes SPF-status så vidt muligt opretholdes. Dyr med SPF-status er nok de hyppigst anvendte inden for toksikologien, da man har at gøre med forsøgsdyr af en defineret mikrobiologisk kvalitet. Derigennem kan man undgå problemer med dyrenes sundhed, herunder overlevelse, og mulighederne for fortolkning af fund i de eksponerede dyr forbedres.

Endelig skal nævnes kimfri dyr, der ud over at være fri for sygdomsfremkaldende agens er karakteriseret ved at være sterile (fri for enhver anden form for liv) og dermed uden den normale tarmflora. Arbejdet med sådanne dyr stiller helt specielle hygiejniske krav. Således vil sådanne dyr skulle huses i isolatorer fri for enhver kontakt med omgivelserne, og dyrenes foder, vand og strøelse er behandlet således, at de er fri for indhold af kim af enhver art. Kimfri dyr anvendes til specielle formål som fx undersøgelser af mikrobiologiske forhold i mave-tarmkanalen, herunder undersøgelse af eksempelvis de enkelte bakteriestammers betydning for fordøjelsen, eller genmanipulerede bakteriers overlevelsessevne i tarmsystemet og overførsel af arvemateriale mellem disse og de bakterier, der findes i en normal tarmflora.

Fysiologiske forhold

En række fysiologiske forhold har stor betydning for udfaldet af dyreeksperimentelle undersøgelser. Det drejer sig om faktorer som dyrenes alder, køn og vægt. For alle disse forhold gælder, at de skal være kendte og angivet i forsøgsplaner og forsøgsrapporter, da de udgør en væsentlig del af forsøgsbetingelserne. Der findes internationale guidelines for toksikologiske undersøgelser, der angiver, hvilke undersøgelseskrav der skal være opfyldte, for at undersøgelserne kan accepteres.

En væsentlig faktor, der har indflydelse på resultaterne af dyreeksperimentelle undersøgelser, er de forhold, hvorunder forsøgsdyrene huses. Det drejer sig om bure, rumtemperatur, fugtighed og lysforhold. Der findes flere eksempler på, hvordan variationer i rumtemperatur kan give store forskelle i målinger af identiske parametre. Derfor angiver internationale guidelines for toksikologiske undersøgelser, hvilke krav der skal være opfyldte.

Vedrørende burtyper kan der være tale om trådbure eller plastbure, eksempelvis macrolonbure. Begge burtyper bruges som standard i forskellige laboratorier. For plastburene gælder det, at dyrene bedre er i stand til at opretholde en passende temperatur end i trådburene. De er også særligt velegnede til tunge dyr,

fordi det for disse dyr er mere behageligt at færdes på en fast bund med strøelse end på bunden af trædbure. Arbejdet med plastbure indebærer skift af strøelse med passende mellemrum afhængigt af dyrenes urin og afføring. Hele arbejdsgangen i dyrestalden med håndtering af dyr og strøelse indeholdende urin og fæces bør indrettes, så risikoen for udvikling af forsøgsdyrsallergi hos personalet reduceres mest muligt.

Specifikationen for strøelsen skal være kendt, da gnavere indtager strøelse og ad den vej kan blive eksponeret for uønskede fremmedstoffer, ligesom man også skal tage højde for visse støvgener ved anvendelse af nogle typer strøelse. For trædbures vedkommende gælder det, at den omgivende temperatur skal være højere, end hvad der er tilfældet for arbejde med plastbure, og underlaget af tremmer kan give gener for ældre og tunge dyr. Fordelen med trædbure er bl.a., at der gives mulighed for at observere fæces, urin m.m. i opsamlingsbakken under buret.

Tillige kan man med trædbure i undersøgelser for reproduktionskader observere den plug, dvs den prop af sekret, der falder ud af hunrotters skede inden for ca 24 timer efter parring.

Antallet af rotter pr bur kan også indvirke på de biologiske parametre. Således er der vist en større overlevelse af rotter i undersøgelser, hvor der var 4 dyr pr bur, sammenlignet med dyr, der gik enkeltvis. Tillige indtager rotter, der går alene, mere foder end dyr, der går i grupper, ligesom omsætningen af visse fremmedstoffer er øget. Ligeledes viser erfaringen, at dyr, der går alene i bure, bliver mere aggressive end dyr, der holdes sammen med artsfæller. Derfor må det foretrækkes, at forsøgsdyr som fx rotter går to og to i de tilfælde, hvor individuel husning ikke er nødvendig af forsøgsmæssige grunde.

Foder og fodring

Foder til forsøgsdyr udgør i toksikologiske undersøgelser en meget betydningsfuld faktor, der undertiden påvirker dyrene mere end den eksponering, man vil undersøge. Foderet skal opfylde de ernæringsmæssige krav for de forskellige dyrearter og være fri for forureninger af kemisk eller mikrobiologisk art. Foderets sammensætning har ud over de ernæringsmæssige forhold og den mulige forekomst af forurening også betydning for en række fysiologiske forhold. Eksempelvis vil et højt indhold af fibre i foderet til rotter give en hurtigere tarmpassage, ligesom foderets sammensætning kan påvirke galdsekretion og sammensætningen af tarmfloraen. Vedrørende krav til foder i øvrigt skal blot henvises til speciallitteratur, der angiver de ernæringsmæssige behov for forskellige dyrearter.

Her skal blot omtales tre typer forsøgsdyrsfoder til gnavere, der anvendes i toksikologiske undersøgelser. Den første type er det såkaldte chow-foder, foder sammensat af naturlige ingredienser som fx korn og skummetmælkspulver tilsat mineraler og vitaminer.

Den anden type er semisyntetisk foder, der indeholder nærmere definerede ingredienser som fx mælkeprotein (kasein), sojao-lie, kulhydrater herunder stivelser samt mineraler, vitaminer og undertiden cellulose.

Hvad førstnævnte fodertype angår, er der den fordel, at foderet er ernæringsmæssigt godt og billigt. Ulempen ved anvendelsen kan være de ofte meget store variationer i kvalitet, herunder næringsværdien af hovedingredienserne, der for bl.a. korndelens vedkommende kan veksle afhængigt af høstbetingelserne, samt kontrollen af forureninger. For det semisyntetiske foder gælder, at det er meget dyrt, ca 10 gange dyrere end chow-foder, men grundet sammensætningen af definerede ingredienser kan kvaliteten bedre styres, og de enkelte dele af dette foder kan på en kontrolleret måde udskiftes med andre dele, uden at foderets ernæringsmæssige sammensætning ændres. Således kan man undersøge et proteinstof og kompensere for dette i foderet, således at man kan adskille en eventuel toksikologisk virkning af stoffet fra den effekt, der er betinget af, at stoffet som protein har en næringsværdi.

Den tredje type foder er det såkaldte syntetiske foder. I modsætning til det semisyntetiske foder udgøres alle ingredienser her af kemisk veldefinerede komponenter. Således er proteindelen, der i semisyntetisk foder består af eksempelvis kasein, opbygget af de tilsvarende enkelte aminosyrer. Denne type foder anvendes kun i meget specielle tilfælde.

Tidligere er det nævnt, at fodringen sammen med det genetiske selektionspres, som avlerne praktiserer for at øge rentabiliteten i avlen, ser ud til at resultere i tungere dyr med nedsat overlevelse og større sygdomshyppighed til følge. I mange år har man vidst, at forsøgsdyrs foder forsyner forsøgsdyrene med en høj grad af energi. Nedsætter man foderets energiindhold ved eksempelvis at erstatte det høje indhold af letfordøjelige kulhydrater i det semisyntetiske foder med tungere forgærbare stivelser, øger foderets indhold af det biologisk stort set unedbrydelige cellulose og reducerer på fedtet, kompenserer rotten ved at øge indtagelsen af foder. Denne evne til at kompensere for foderets energiindhold ses også, hvis man øger foderets indhold af energi, eksempelvis ved at øge fedtindholdet, idet rotten så vil nedsætte sit foderforbrug.

Problemet vedrørende fodring af rotter i længerevarende undersøgelser såsom undersøgelser for kræftfremkaldende effekt

er, at dyrene bliver for fede. En hanrotte kan i ekstreme tilfælde veje op mod 900 g, ja i visse tilfælde op mod 1.000 g, og uanset hvilke manipulationer man foretager for at nedbringe foderets energiindhold, kompenserer rotten blot ved at indtage mere foder. For at komme ud over det problem har man i de senere år forsøgt sig med en fremgangsmåde benævnt "Dietary Restriction" (DR), hvor man giver dyrene en afmålt fodermængde, der er mindre end den mængde, dyrene vil æde, hvis de har fri adgang til foder. Resultaterne har været lovende både mht at nedsætte hyppigheden af lidelser, eller måske snarere udsætte tidspunktet for deres opståen, og mht forøgelse af dyrenes gennemsnitlige levetid. Endnu er DR ikke accepteret internationalt, dvs at internationale guidelines ikke foreskriver en sådan fodring af forsøgsdyrene. Trægheden i at ændre på fodringsmåden i undersøgelserne skyldes bl.a. bekymringen for, at den nedsatte hyppighed af normal forekomst af kræft i forsøgsdyrene afspejler en nedsat følsomhed for induktion af kræft, dvs at mulighederne for at påvise en kræftfremkaldende effekt af et kemisk stof bliver mindre. Tillige er laboratoriernes erfaringsgrundlag i form af kontroldata baseret på undersøgelser, hvor dyrene fodres "ad libitum", dvs har fri adgang til foder. Dog er der tegn på en vis nedtoning af disse bekymringer, og indførelse af DR i længerevarende guideline-undersøgelser med forsøgsdyr vil blive en accepteret fremgangsmåde fremover.

Opstaldning, dosering og aflivning

Andre forhold har også betydning for resultaterne af de toksikologiske undersøgelser. Der kan nævnes antal doseringer, dosisvolumen og anvendelse af hjælpestoffer. For disse forhold gælder, at de skal være kendte og angivet i forsøgsplanen og den efterfølgende rapport, da de udgør en væsentlig del af forsøgsbetingelserne. Derfor angives kravene til disse forhold i de internationale guidelines for toksikologiske undersøgelser.

Et andet væsentligt aspekt vedrørende dyreeksperimentelle undersøgelser er aflivning af forsøgsdyr, der skal gennemføres på den for dyret mest skånsomme måde.

Toksikologiske undersøgelser

Data fra toksikologiske undersøgelser indgår i den sundhedsmæssige vurdering af kemiske stoffer inden for en lang række

områder. Det toksikologiske undersøgelsesprogram skal således bestå af undersøgelsesmetoder, der kan give et billede af konsekvensen af eksponering på et hvilket som helst tidspunkt i livet. De tre vigtigste formål med gennemførelsen af de toksikologiske undersøgelser i den sundhedsmæssige vurdering kan opstilles på følgende måde:

- ◆ Den toksikologiske profil af det kemiske stof: påvisning af skadelig effekt i en eller flere anvendte forsøgsdyrsarter og beskrivelse af dosisafhængigheden over en bred række eksponeringer.
- ◆ Ekstrapolation: forudsigelse af skadelig effekt på mennesker.
- ◆ Risikovurdering, forholdsregler: fastsættelse af sundhedsmæssigt acceptable eksponeringsniveauer for mennesker.

I det følgende vil en række toksikologiske in vivo undersøgelsesmetoder kort blive præsenteret, og generelle forhold vedrørende planlægning og gennemførelse af undersøgelserne, herunder valg af doser, vil blive omtalt.

Det toksikologiske undersøgelsesprogram består primært af følgende undersøgelser:

- ◆ akut toksicitet
- ◆ øjenirritation
- ◆ hudirritation
- ◆ kontaktallergi
- ◆ toksicitet ved gentagen dosering (4-12 måneder)
- ◆ kræft
- ◆ skader på reproduktion, herunder fosterskader
- ◆ neurotoksicitet
- ◆ genotoksicitet.

Tillige indgår der undersøgelser til belysning af teststoffers optagelse, omsætning og udskillelse (toksikokinetik) samt undersøgelser til belysning af virkningsmekanisme (toksikodynamik) som vigtige dele af det toksikologiske undersøgelsesprogram.

Undersøgelse for akut toksicitet

Akut toksicitet omfatter en hvilken som helst skadelig virkning, der optræder inden for et kort tidsrum (sædvanligvis inden for 14 dage) efter udsættelse for en enkelt dosis af et kemisk stof eller flere doser inden for 24 timer. Eksponeringen kan eksempelvis være via munden (oral), via luftvejene (inhalation) eller via huden (dermal). Sådanne undersøgelser har været gennem-

ført i mange år, og et mål for middel letal dosis (LD_{50}) har været brugt af myndighederne som en del af grundlaget for at klassificere og mærke kemiske stoffer. LD_{50} er den beregnede enkelt-dosis af et teststof, som kan forventes at forårsage 50% af forsøgsdyrenes død. LD_{50} -værdier angives oftest som vægt af teststof pr vægtenhed af forsøgsdyr (mg/kg legemsvægt).

Ved eksponering via luftvejene anvendes parameteren LC_{50} (middel letal koncentration), der er en parallel til LD_{50} -værdien. LC_{50} -værdier udtrykkes almindeligt som vægt af et teststof pr luftvolumenenhed ved standardbetingelserne (mg/L). LD_{50} eller LC_{50} er kun én ud af flere parametre, der kan anvendes til beskrivelse af akut toksicitet. Disse parametre udgør ikke absolutte værdier, da der er store variationer fra undersøgelse til undersøgelse af et givet stof, både i samme laboratorium og fra laboratorium til laboratorium. Disse variationer hidrører fra faktorer som dyreart, dyrestamme, dyrenes alder og forsøgsbetingelser i øvrigt.

I de senere år er der opnået en stigende erkendelse af, at død som mål i en dyreeksperimentel undersøgelse medfører uacceptabel lidelse for forsøgsdyrene. Da parameteren LD_{50} eller LC_{50} tillige bruges mere pga den praktiske anvendelighed af en talstørrelse end pga en egentlig videnskabelig værdi, er der sket en udvikling hen imod anvendelse af alternative, mere etisk acceptable fremgangsmåder til undersøgelse for akut toksicitet. Dels anvendes der i de alternative undersøgelsesmetoder færre dyr end i den traditionelle LD_{50} -undersøgelse, fordi der anvendes en trinvis testning med ét dosisniveau ad gangen i modsætning til testning af flere doser samtidigt. Dels anvendes moderat toksiske doser, hvor andre symptomer end død anvendes. Disse fremgangsmåder er nu beskrevet i internationalt accepterede guidelines (eksempelvis "Fixed Dose Method", "Acute Toxic Class Method" og "Up-and-Down Method", sidstnævnte accepteret og ved at blive publiceret som færdig guideline). Med indførelse af de nye guidelines er det meningen, at den traditionelle LD_{50} -metode skal fases ud. Indtil videre bibeholdes denne guideline test med tilføjelse af en tekst, der skal gøre det klart, at de alternative fremgangsmåder skal anvendes ved klassifikation af kemiske stoffer og som første trin i den toksikologiske vurdering af kemiske stoffer. Det beskrives også, i hvilke tilfælde den traditionelle test passende kan anvendes.

Undersøgelsesresultatet fra den akutte toksicitetstestning skal anvendes af myndighederne til fastsættelse af regler for håndtering af kemiske stoffer. Herudover skal resultaterne danne grundlag for planlægningen af længerevarende undersøgelser, herunder valg af doser. For lægemidler anvendes resultaterne endvidere til vurdering af størrelsen af intervallet mellem den terapeutiske dosis og den dosis, der forårsager toksiske effekter.

I undersøgelser for akut toksicitet udsættes grupper af forsøgsdyr, oftest begge køn, enten samtidigt for flere doser, eller trinvist dosis for dosis, indtil en eventuel effekt af stoffet er påvist. I visse tilfælde, hvor man ikke forventer en stærk akut giftighed af stoffet, kan man begrænse undersøgelsen til en såkaldt grænseudsættelse, der er fastlagt i den enkelte testmetode som den højeste dosis, det er relevant at undersøge.

I tilfælde af gennemførelse af en indledende test på enkelte dyr før den egentlige undersøgelse vil man normalt anvende hundyr, medmindre der foreligger oplysninger om, at handyr er de mest følsomme. Dyrene observeres klinisk med korte mellemrum lige efter doseringen og mindst én gang dagligt og i nyere tests to gange mhp at registrere eventuelle dødsfald eller andre symptomer på forgiftning som krampe, sløvhed, øget spytksekretion eller anden form for ændret adfærd. I alle tilfælde skal dyr, der viser tegn på lidelse, aflives. Forsøgsdyrenes legemsvægt registreres undertiden for at vurdere, om dyrene er påvirket af doseringen. Alle dyr, der har været eksponeret, skal obduceres, og histopatologiske undersøgelser af organer, der udviser forandringer, skal overvejes for herigennem at få informationer om stoffets virkninger.

Undersøgelse for øjenirritation

Test for øjenirritation blev udviklet i 1944 af Draize. Kaninen er den foretrukne dyreart i denne test, hvor teststoffet appliceres i dyrets øje mhp at undersøge, om stoffet virker øjenirriterende. Graden af øjenirritation observeres og vurderes efter et specielt scoringssystem til graduering af effekten på hornhinden, bindehinden (conjunctiva) og regnbuehinden (iris) samt opsvulmning i øjenlåg og blinkhinde. I erkendelse af, at denne test undertiden kan påføre forsøgsdyret svære lidelser, er testen blevet modificeret gennem årene. Antallet af dyr er reduceret, og i tilfælde af formodet øjenirritation af teststoffet kan man påbegynde testen med blot ét dyr og evt stoppe her, hvis klar øjenirritation observeres. Tillige er der i OECD's guideline en introduktion, der angiver indledende overvejelser mht bl.a. stoffets surhedsgrad. Således er det ikke nødvendigt at teste stærkt sure stoffer med pH under 2 eller stærkt basiske stoffer med pH over 11,5. Endvidere vurderes eventuelle data fra hudirritationstests og data fra validerede og accepterede in vitro tests.

Vedrørende in vitro undersøgelse kan nævnes, at der eksisterer flere undersøgelsesmetoder, som gennem testning af en række stoffer er ved at blive valideret mht følsomhed og specificitet (evnen til at skelne mellem stoffer med effekt og stoffer uden

effekt). Undersøgelsernes praktiske gennemførelse og reproducerbarheden af data både inden for det enkelte laboratorium og mellem laboratorierne vurderes også. Det faktum, at undersøgelsen af øjenirritation kan påføre dyrene alvorlige lidelser, samt at data fra in vitro undersøgelser tilsyneladende kan udgøre et acceptabelt alternativ, lægger et stort pres på toksikologer og myndigheder til om muligt at lade dyreforsøgene udgå til fordel for in vitro forsøg.

Undersøgelse for hudirritation

Denne test minder om øjenirritationstesten og blev ligeledes foreslået af Draize i 1944. Ligesom tilfældet er med øjenirritationstesten, er kaninen den foretrukne forsøgsdyrsart, og de samme forhold mht at mindske forsøgsdyrenes lidelser og reducere antallet af anvendte dyr, som er gældende for øjenirritationstesten, er også aktuelle her.

Teststoffet appliceres på et mindre areal af huden (ca 6 cm²) dækket af gaze, der holdes på plads med en ikke-hudirriterende klæbestrimmel. I visse tilfælde kan det være nødvendigt at påføre gazestoffet teststoffet og holde dette gazestof i løs kontakt med huden med en passende halv-lukket forbindelse i hele eksponeringsperioden på normalt ca 4 timer. Ligesom tilfældet er med øjenirritationstesten, observeres og vurderes en eventuel effekt på den eksponerede hud efter et specielt scoringssystem, der muliggør graduering af graden af effekt i form af rødme, skorpedannelse og ødeme i huden. For denne test er der også en udvikling i gang hen imod in vitro undersøgelser som alternativ til dyreforsøgene.

Undersøgelse for kontaktallergi

Kontaktallergi er en immunologisk hudreaktion (type IV reaktion), som kan fremkaldes ved eksponering for visse kemiske stoffer. Denne form for allergi, der er en T-celle medieret hudreaktion, er karakteriseret ved at opstå som en forsinket reaktion (24-96 timer) på en hudeksponering for ikke-irritativ koncentration af stoffet. Symptomerne kommer der, hvor huden er i kontakt med stoffet, ved nikkeleksem fx under et nikkelholdigt ur eller ved en nikkelholdig øring. Hos mennesker vil effekten kunne vise sig ved kløe, rødme, væskeansamling i huden (ødem) og små blærer, mens reaktionen i forskellige dyrearter kan indskrænke sig til rødme og ødem.

Der har i mange år været tale om to metoder, nemlig adju-

vans-test, der benytter sig af en potensering af effekten ved dosering med Friends Complete Adjuvans (FCA), og non-adjuvans-test, der er uden eksponering for FCA. Til begge metoder er marsvin den foretrukne dyreart. Dyrene doseres i huden med teststoffet i ikke-toksiske doser. Efter 10 til 14 dage bliver dyrene atter eksponeret for stoffet i den højeste koncentration, der ikke forårsager en irritativ effekt, og en eventuel effekt vurderes i forhold til kontrol dyr, der har været udsat for samme behandling bortset fra eksponering for teststoffet. Som minimum angiver guideline for adjuvans-testen, "Guinea-Pig Maximization Test", at der bruges 10 testdyr og 5 kontrol dyr, mens der tilsvarende for en non-adjuvans-test, Bueller Test, bruges 20 testdyr og 10 kontrol dyr. Man kan vælge at bruge enten handyr eller hundyr.

Nyere metoder som "mouse ear swelling test" (MEST) og "local lymph node assay" (LLNA) kan anvendes som indledende tests for kontaktallergitesten. Hvis der ses effekt i disse undersøgelser, behøver man ikke at lave yderligere undersøgelser, mens fravær af effekt nødvendiggør en verifikation i en marsvinetest.

Toksicitet ved gentagen dosering: 28 dage, 90 dage (subkronisk) og ét år (kronisk)

Formålet med disse metoder er at undersøge, om gentagen, daglig udsættelse for stoffet medfører systemiske effekter. Eksponeringen kan være via munden, huden eller gennem inhalation. Undersøgelsen er væsentlig mhp at påvise et eventuelt målorgan for en toksisk effekt til belysning af, hvordan organismen håndterer det kemiske teststof. Da undersøgelsen skal dække bredt mhp at påvise en eventuel toksisk effekt af et kemisk stof, indebærer det måling af en lang række kliniske, biokemiske og patologiske parametre, herunder histopatologiske undersøgelser. Sådanne tests foretages som oftest, efter at man har undersøgt for akut toksicitet, og eksponeringsperioden er valgt, så der i modsætning til effekten af enkelt eksponering gives en mulighed for at opnå vurdering af en eventuel kumulativ effekt.

Oprindeligt blev der i testen doseret i 90 dage, fordi denne periode udgør ca 10% af rottens levetid, mens et år er blevet valgt i tests for kronisk toksicitet baseret på, at perioden dækker en større del af dyrenes levetid. Den nyeste guideline for undersøgelse ved gentagen dosering i 28 dage (28-dages test) er designet, så den som en indledende test kan afsøge hele spektret af mulige toksikologiske effekter ("screeningsundersøgelse"), herunder tegn på en eventuel neurotoksisk effekt, effekt på immunapparatet og toksisk effekt på kønsorganerne. Ud fra

resultatet af en sådan undersøgelse vil man også være i stand til at vælge dosering i opfølgende undersøgelser, herunder dosering over længere perioder, og tilrettelægge undersøgelsesprogrammet mhp opfølgende undersøgelser af allerede påviste effekter.

Alle forsøgsdyrsarter kan indgå i undersøgelserne for toksicitet ved gentagen eksponering. Der kan være tale om gnavere som rotte og mus eller ikke-gnavere, hvor de hyppigst anvendte dyrearter er hund og mini-grise. Tilrettelæggelse og gennemførelse af undersøgelserne for 28, 90 og 365 dages eksponering er parallelle og adskiller sig kun fra hinanden i antallet af anvendte dyr og undersøgelsesernes omfang.

I alle undersøgelserne er dyrene inddelt i mindst 4 hold, 3 doserede og et kontrolhold, hvor dyrene behandles som de doserede dyr, bortset fra at de ikke eksponeres for teststoffet. For 28-dages undersøgelsen er antallet af dyr pr hold 5 hanner og 5 hunner ved anvendelse af gnavere. I 90-dages undersøgelsen er holdstørrelsen for gnavere 10 hanner og 10 hunner, mens tilsvarende holdstørrelsen i 1 års-undersøgelser er 20 af hvert køn. Ved anvendelse af ikke-gnavere vil den mindste anbefalede holdstørrelse være 4 dyr af hvert køn, men oftest anvendes 6 dyr af hvert køn i de lidt længerevarende undersøgelser.

Valg af doser vil være afhængig af resultater fra eventuelle tidligere undersøgelser, herunder data for optagelse, omsætning og udskillelse af stoffet. Det tilstræbes, at højeste dosis forårsager en større grad af toksisk effekt, dog således at dødsfald ikke indtræder, og at dyrene ikke udsættes for alvorlige lidelser. Med en af doserne skal der påvises et ikke-toksisk-effektniveau. Det anbefales, at dosisspring, dvs den relative forskel mellem doserne, ikke er større end 4, og frem for at arbejde med store dosisspring bør der medtages yderligere et doseret hold.

Vedrørende dosering skal nævnes, at OECD-guideline for 28 dages- og 90-dages undersøgelsen opererer med en såkaldt "limit test", der foreskriver muligheden for at foretage en begrænset undersøgelse med anvendelsen af kun ét doseret hold i de tilfælde, hvor en dosis på 1.000 mg/kg legemsvægt/dag ikke forventes at give nogen observerbar toksisk effekt.

Da undersøgelserne bredt skal kunne give et billede af, hvilken toksisk effekt der kan opstå i organismen som følge af en eksponering for et kemisk stof, indgår der en bred vifte af parametre. Der er tale om kliniske data, herunder kliniske observationer, i visse tilfælde øjenundersøgelse (ophthalmologiske undersøgelser), måling af legemsvægt, tilvækst, foderindtagelse, herunder stofindtagelse, i de tilfælde, hvor stoffet er opblandet i foderet, hæmatologiske undersøgelser, dvs undersøgelse af blodbilledet, biokemiske undersøgelser (klinisk kemi) og patologiske undersøgelser, herunder obduktion og histopatologi. Yderligere

kan der i undersøgelser for kronisk toksicitet indgå visse funktionsundersøgelser af nervesystemet og en urinanalyse, der inkluderer bestemmelse af udseende, volumen og indhold af protein, glukose, ketoner, blod og urinsediment.

Undersøgelse for kræft

I modsætning til andre typer undersøgelser af kortere varighed, der kan give en indikation på, om et kemisk stof er kræftfremkaldende, er formålet med undersøgelser for kræft eller mere præcist langtidsundersøgelse for kræft at observere eksponerede forsøgsdyr over størstedelen af deres levetid mhp at påvise udvikling af kræft. Sådanne undersøgelser, der er meget kostbare og tidskrævende, har været gennemført i mange år uden de store ændringer i planlægning og gennemførelse. Der har dog været en udvikling hen imod en teststrategi, hvor alle oplysninger om det kemiske stofs fysisk-kemiske egenskaber, herunder kemisk struktur, parret med data fra kortvarende *in vitro* og *in vivo* undersøgelser for bl.a. genotoksisk effekt vurderes mhp at afgøre, om den ressourcekrævende langtidsundersøgelse for kræft overhovedet er påkrævet.

De foretrukne forsøgsdyrsarter i undersøgelser for kræftfremkaldende effekt er rotte, mus og hamster, da disse dyrearter har en relativt kort levetid og kan huses i et tilstrækkeligt stort antal i laboratoriet. Mht valg af dyrestamme er det specielt vigtigt at kende dyrenes normale levetid, da eksponeringstiden i undersøgelsen for kræft er lang. Tillige vil kendskabet til baggrundsforekomsten af tumorer være afgørende. Således vil man fx ikke vælge Fischer-rotter til undersøgelse af et kemisk stof, der er mistænkt for at give tumorer i testiklerne, da denne dyrestamme har en meget høj spontan forekomst af sådanne tumorer, hvilket vil kunne maskere en eventuel effekt af teststoffet.

Eksponeringsvejen er typisk oral, dermal eller via inhalation, og doseringen vil strække sig over en periode på minimum 24 måneder for rotter og 18 måneder for mus og hamstere. Der anvendes oftest 3 doserede hold og et kontrolhold. Holdene består af 50 dyr af hvert køn. OECD-guidelines for sådanne undersøgelser anbefaler for gnavere, at dyrenes alder ved start af doseringen ikke er over 6 uger. Tillige er det et krav til undersøgelsen, at dyrene lever så længe, at der kan udvikles en erkendelig kræft. Som et minimum skal 50% af dyrene være levende efter 24 måneder for rotter og 18 måneder for mus og hamstere. Dyr, der dør undervejs, skal hurtigt underkastes en patologisk undersøgelse, således at man kan overholde kravet om, at højst 10% af dyrene unddrages undersøgelse grundet for-

rådelse. En sådan proces indtræder hurtigt, så alene af den grund er det nødvendigt at observere dyrene hyppigt. Nødvendigheden af, at dyrene i sådanne undersøgelser lever tilstrækkeligt længe, gør, at kravene til dyrenes kvalitet og pasning, herunder krav til kvalitet af foder, er høje.

Valg af doser vil være afhængigt af resultater fra tidligere undersøgelser, herunder data for optagelse, omsætning og udskillelse af teststoffet. Den højeste dosis skal give anledning til en vis toksisk effekt, uden dog på nogen måde at resultere i, at dyrene af denne grund lever kortere eller på anden måde afviger så meget fra normaltilstanden, at der ikke længere er tale om en fysiologisk acceptabel dyremodel. Man opererer med en "Maximum Tolerated Dose" (MTD). Denne MTD har været genstand for stor diskussion igennem årene, idet der har hersket en vis uenighed om, hvad man kan acceptere som en maksimal tolerabel dosis, og hvilken effekt på dyrene en sådan dosering må have. I OECD's guideline angives MTD som den dosis, der giver en toksisk effekt i visse serum-enzymmer og en let nedsat tilvækst, der dog ikke må afvige mere end 10% fra kontrolholdets tilvækst. Den laveste dosis i test for kræft tilstræbes at være uden effekt på de doserede dyr, og det anbefales, at den ikke ligger mere end 10% under den højeste dosis.

Undersøgelse for kræft omfatter biologiske parametre i form af bl.a. klinisk observation, registrering af legemsvægt, tilvækst og foderoptagelse samt hæmatologiske undersøgelser. Hovedvægten er lagt på de patologisk-anatomiske undersøgelser, der omfatter grundig obduktion samt omfattende histopatologiske undersøgelser af væv og organer.

Undersøgelse for skader på reproduktionen, herunder fosterskader

Undersøgelse for reproduktionsskader som følge af eksponering for et kemisk stof skal dække meget bredt, så alle forhold af betydning for den normale reproduktion undersøges. Således skal undersøgelserne danne basis for vurdering af mulige effekter på fertiliteten hos begge køn, herunder bl.a. spermatogenese og oogenese (dannelse af sæd og ægceller), hormonel aktivitet, libido og seksualadfærd. Hvad afkommet angår, skal fosterskader forstås bredest muligt, dvs. omfatte enhver effekt, der hindrer en normal udvikling af individet. Der kan eksempelvis være tale om fosterdød, anatomiske defekter (misdannelser), nedsat vægt, tilvækst og generel udvikling op til puberteten.

Relationen mellem eksponering for et kemisk stof og en even-

tuel skadende effekt på reproduktionen er meget kompleks, da tidspunktet for eksponeringen i forhold til udviklingstrinet hos den anvendte forsøgsdyrart har betydning for arten og omfanget af effekter. Tillige skal det tages i betragtning, at undersøgelserne ofte omfatter et samspil mellem eksponering og effekt på forældrene, som også kan have betydning for eksponering af og effekt på fosteret og det nyfødte individ i digegivningsperioden.

Der findes mange typer undersøgelser til påvisning af foster-skadende effekt. De hyppigst anvendte forsøgsdyrarter er rotte, kanin og mus, men andre forsøgsdyrarter kan også indgå i undersøgelserne, hvis tidligere undersøgelsesresultater eller forhold i øvrigt ved teststoffet viser nødvendigheden heraf.

Undersøgelse for neurotoksicitet

Undersøgelse for neurotoksicitet er meget kompleks, fordi nervesystemet udgør et væsentligt grundlag for mange funktioner i organismen, og fordi kemiske stoffer kan påvirke nervesystemet på mange forskellige måder. Da en enkelt test ikke kan dække alle sider af neurotoksicitet, findes der flere undersøgelsestyper, der hver især kan belyse forskellige funktionelle skader. Skader på nervesystemet vil ofte give sig udslag i adfærdsændringer, der kan registreres i dyreeksperimentelle adfærdsundersøgelser.

Imidlertid kan sådanne adfærdsændringer også være forårsaget af systemisk toksicitet. Derfor er det væsentligt, at undersøgelser for skader på nervesystemet vurderes på baggrund af resultater fra toksikologiske undersøgelser i øvrigt. Desuden er histopatologiske undersøgelser og hæmatologiske og biokemiske undersøgelser vigtige, og de vil være medvirkende til at kunne skelne mellem en primær, direkte effekt og en sekundær, indirekte effekt på nervesystemet. En OECD-guideline for neurotoksicitet på gnavere er accepteret. Endvidere indgår undersøgelser for effekter på nervesystemet i 28-dages toksicitetsundersøgelsen som tidligere nævnt, og nyere guidelines for undersøgelse af kemiske stoffers mulige påvirkning af forsøgsdyrs udvikling i deres tidlige levealder, inklusive udvikling af nervesystemet, herunder hjernen, er under udarbejdelse.

Undersøgelse for genotoksicitet

Under området genotoksicitet eller effekt på cellernes arvemateriale er der tale om en bred vifte af tests, herunder in vitro undersøgelser i pattedyrsceller, bakterier og svampeceller. De forskellige undersøgelser kan eksempelvis give et billede af, om

eksponering for det kemiske stof kan forårsage skader på genet (punktmutation) eller kromosomafvigelser enten i kønsceller eller i organismens øvrige celler. I OECD-regi findes flere guidelines, og disse er inddelt i tests for punktmutation og kromosomafvigelser samt tests for DNA-effekt. En egentlig beskrivelse af hele dette område fremgår af kapitlet om genotoksikologi i bind II. Her skal blot nævnes, at in vivo undersøgelserne udgør et væsentligt grundlag for mærkning og klassifikation af kemiske stoffer. Endelig skal det nævnes, at in vivo tests for genotoksicitet er et vigtigt led i teststrategien for undersøgelser for kræftfremkaldende effekt, da der er et stort sammenfald mellem kemiske stoffer, der er in vivo genotoksiske, og stoffer, der er kræftfremkaldende. Da der tillige er meget få kemiske stoffer, der inducerer in vivo mutation og ikke samtidig giver anledning til kræftfremkaldende effekt i langtidsundersøgelse for kræft (se ovenfor), kan man tillade sig at karakterisere et kemisk stof som muligt kræftfremkaldende alene på basis af en positiv effekt for genotoksicitet in vivo.

OECD-guidelines

Mennesker kan blive udsat for mange kemiske stoffer og produkter i miljøet, og for alle disse er det målet, at der foreligger undersøgelsesresultater, der gør det muligt at foretage en sundhedsmæssig risikovurdering. Miljøstyrelsen vurderer, at der markedsføres ca 20.000 kemiske stoffer og ca 100.000 forskellige kemiske produkter i Danmark, og OECD nævner, at der på verdensplan er tale om anvendelse af omkring 100.000 kemiske stoffer. Det er klart, at det vil være meget ressourcekrævende, grænsende til det umulige at fremskaffe toksikologiske data til en tilstrækkelig sundhedsmæssig risikovurdering for alle disse stoffer. For at dele byrden landene imellem i det store arbejde forbundet med at undersøge bare nogle af disse mange stoffer, er det væsentligt, at der udarbejdes internationalt accepterede metodebeskrivelser for de toksikologiske undersøgelsestyper, de såkaldte "guidelines", der angiver, hvad der skal til, for at undersøgelsesresultater kan anerkendes fra land til land. Sådanne guidelines udarbejdes i flere organisationers regi, og her skal omtales Organisationen for Økonomisk Samarbejde og Udvikling (OECD), der inden for området kemiske stoffer internationalt indtager en central rolle i udviklingen af guidelines.

Når en toksikologisk undersøgelse anvendes i den sundhedsmæssige risikovurdering af kemiske stoffer, må den generelt

opfylde det kriterium, at den kan danne videnskabelig basis for en vurdering, eller sagt med andre ord give tilstrækkelig information til en eventuel administrativ regulering af anvendelsen af det kemiske stof. Det er et krav, at testen er evalueret, dvs at den skal være vurderet mhp den effekt, den skal kunne påvise. Tillige må testen også være valideret mhp at demonstrere, at den er robust, og at resultatet er reproducerbart. Dvs at undersøgelsesmetoden kan anvendes gang efter gang i flere forskellige laboratorier og med flere typer af kemiske stoffer, uden at dette for det enkelte kemiske stof giver anledning til stor forskellighed eller variation i udfaldet af testen.

Tillige må en accepteret toksikologisk test som tidligere omtalt respektere kravene vedrørende forsøgsdyr, idet den enkelte test skal tilsigte mindst muligt ubehag for de anvendte forsøgsdyr samt reducere antallet af anvendte laboratoriedyr mest muligt.

Endelig, men ikke mindst vigtigt, specielt i international sammenhæng, skal en test accepteres, før den kan få status som guideline. Dette sidste har stor betydning for udarbejdelsen af OECD-guidelines, hvor der kræves fuld enighed blandt de ca 25 industrialiserede lande, der er medlem af denne sammenslutning og derigennem deltager i udviklingen af de toksikologiske guidelines.

OECD's kriterier for at fremme en toksikologisk undersøgelsesmetodes udvikling til guideline er følgende:

- ◆ Testen skal på tilstrækkelig vis kunne påvise den omhandlede effekt.
- ◆ Testen skal have en videnskabelig berettigelse og være gennemvurderet mhp følsomhed, dvs evnen til at opfange effekt og reproducerbarhed.
- ◆ Testen skal helst være valideret over for en anden sammenlignelig test.
- ◆ Testen skal kunne standardiseres.
- ◆ Testen skal normalt ikke være afhængig af meget specialiseret udstyr og ekspertise.
- ◆ Testen skal tilsigte mindst muligt ubehag for de anvendte forsøgsdyr samt reducere antallet af anvendte laboratoriedyr mest muligt.

Vedrørende kravet om udstyr og ekspertise har der gennem årene været stor diskussion. Kravet skal bl.a. forstås som en modvilje mod at indføre test-guidelines, der indebærer brugen af patenterede testsystemer. Dette princip er yderst relevant, da undersøgelser mhp at vurdere sundhedsmæssige konsekvenser af menneskers udsættelse for kemiske stoffer skal være uafhængige af kommercielle hensyn og kunne gennemføres på så

mange laboratorier som muligt. Mht forsøgsdyrsmodeller kunne patenterede testsystemer eksempelvis være transgene dyremodeller, og på det punkt kan det være, at OECD fremover må løse lidt op for deres modvilje mod disse principper, da brugen af sådanne dyremodeller måske kan give en større viden, være mere skånsomme over for forsøgsdyrene og indebære brug af færre dyr over et kortere undersøgelsesforløb end ved brug af konventionelle dyr.

Der findes i dag en stor samling af OECD-test-guidelines inden for flere områder dækkende såvel undersøgelser for fysisk-kemiske egenskaber af kemiske stoffer, undersøgelser for kemiske stoffers påvirkning af og skæbne i miljøet som en bred vifte af guidelines for toksikologiske in vivo og in vitro undersøgelser omfattende stort set alle områder inden for toksikologien. De enkelte guidelines opdateres på basis af den videnskabelige udvikling inden for området og de enkelte medlemslandes indstilling.

Ud over guidelines for de enkelte toksikologiske tests vil der også være et behov for en vejledning i eksempelvis, hvordan et undersøgelsesprogram kan fastlægges. Dette vil specielt være tilfældet, hvor der som for reproduktionstoksikologiske undersøgelser og neurotoksikologiske undersøgelser er tale om flere forskellige undersøgelsesmetoder, der inden for det brede spektrum af muligheder for effekter af det kemiske stof skal anvendes til testning for en enkelt eller et udsnit af disse. Således er OECD i færd med at udvikle såkaldte "guidance documents" for områderne neurotoksikologi og reproduktionstoksikologi, der dels giver en vejledning for teststrategi, dvs det bedst mulige testprogram til belysning af en eventuel effekt af et kemisk stof, og dels indeholder de relevante testmetoder, der er aktuelle for området. En sådan vejledning skal sammen med de enkelte guidelines bidrage til en øget kvalitet og harmonisering af det toksikologiske undersøgelsesprogram, herigennem yderligere bidrage til gensidig accept af de toksikologiske undersøgelsesresultater og således bl.a. bidrage til nedsættelse af antallet af anvendte forsøgsdyr.

GLP

Ovenfor er omtalt guidelines for de enkelte undersøgelser samt de fremtidige guidance-dokumenter, der kæder de forskellige undersøgelsesmetoder sammen. Til yderligere sikring af gensidig accept af data fra toksikologiske undersøgelser eksisterer der nogle overordnede OECD-principper for forsøgsarbejdet, der benævnes

“God Laboratorie Praksis” (GLP). GLP er formet som et sæt regler, der skal sikre kvalitet og pålidelighed af forsøgene og herigennem gensidig accept af data. GLP dækker alle faser i undersøgelserne, lige fra den overordnede organisation af laboratoriet, herunder de personalemæssige og de rent fysiske forhold og planlægningen samt den direkte tilrettelæggelse af undersøgelsen, til gennemførelse og overvågning af undersøgelsen samt registrering af data og rapportering.

GLP stiller krav til 1) præcisering af ansvarsfordelingen såvel i ledelsen som hos medarbejderne i laboratoriet, 2) faciliteter, herunder husning af forsøgsdyrene, laboratorier i øvrigt, arkiveringsforhold og hjælperum bl.a. til opbevaring af materialer lige fra teststof til affald, 3) apparatur, materialer og reagenser, 4) testsystemer, såvel de fysisk-kemiske som de biologiske, herunder forsøgsdyrene, 5) anvendte test- og referencestoffer og 6) gennemførelse af undersøgelsen, herunder rapportering af undersøgelsen og arkivering af alle væsentlige dokumenter i forsøget, så man til enhver tid kan gå tilbage og få et klart overblik over, hvad der er foregået.

For at opfylde de nævnte krav skal der foreligge et curriculum vitæ for enhver medarbejder, der deltager i undersøgelsen, og standardforskrifter (SF, på engelsk SOP for Standard Operation Procedure), dvs et sæt af til stadighed opdaterede regler for gennemførelsen af en hvilken som helst procedure i undersøgelserne, herunder en klar dokumentation for, at reglerne er fulgt, samt plan for håndtering af data. SF er grundlaget for kvalitetssikring og til en vis grad også kvalitetskontrol, men den egentlige kvalitetskontrol udøves af en kvalitetskontrolenhed (QAU, Quality Assurance Unit), der opererer uafhængigt af forsøgslederen af undersøgelsen. Laboratorier og herunder de gennemførte undersøgelser er ligeledes under regelmæssig inspektion af forskellige nationale og undertiden internationale myndigheder. Den Danske Myndighed er DANAK, Dansk Akkreditering, Erhvervsfremme Styrelsen, og reglerne for godkendelse findes i Bekendtgørelse om akkreditering af laboratorier til teknisk prøvning mv.

Generelt kan det fastslås, at toksikologiske data, der skal indgå i den sundhedsmæssige riskovurdering af kemiske stoffer, helst skal stamme fra GLP-undersøgelser.

ECVAM

ECVAM er navnet på Det europæiske center for validering af alternative metoder (European Center for Validation of Alternative Methods). Dyreforsøg i Danmark er underlagt Lov

om Dyreforsøg (lov nr. 470 af 30. juni 1993). Denne lov er baseret på EU Direktiv No. 86/809 samt Det Dyreetiske Nævns rekommandation fra september 1992.

I loven og direktivet fastslås det, at dyr ikke må anvendes til forsøg, hvortil anvendelse af celle-, vævs- eller organkulturer eller andre metoder må antages at være lige så velegnede. I direktivet står yderligere, at Kommissionen og medlemsstaterne i EU skal fremme forskning mhp udvikling og godkendelse af "alternative metoder", som kan give lige så omfattende oplysninger som dem, der nu opnås ved forsøg med dyr, men som indebærer anvendelse af færre dyr eller mindre smertefulde fremgangsmåder. Som en følge heraf har Kommissionen på basis af beslutning truffet i 1991 etableret ECVAM med det formål at fremme den videnskabelige og myndighedsmæssige accept af "alternative metoder" i den hensigt at opnå en reduktion i antallet af anvendte forsøgsdyr, forfine undersøgelserne mhp at gøre undersøgelserne mindst muligt lidelsesvoldende for forsøgsdyrene samt om muligt at gennemføre undersøgelser helt uden brug af forsøgsdyr. ECVAM har formuleret følgende hovedopgaver:

- ◆ Koordinere valideringen af "alternative testmetoder" på europæisk niveau.
- ◆ Fungere som center for udveksling af informationer om udviklingen af "alternative metoder".
- ◆ Etablere, vedligeholde og anvende en database om "alternative metoder".
- ◆ Promovere dialog mellem lovgivere, industrier, biomedicinske forskere, forbrugerorganisationer og dyrevelfærdsgrupper mht udvikling og international anerkendelse af "alternative metoder". En nærmere omtale af ECVAM og alternative testmetoder i form af in vitro metoder kan findes i kapitel 4.

Forsøgsdyrs anvendelse i risikovurderingen

Resultaterne fra toksikologiske undersøgelser udgør et væsentligt element i risikovurderingen for menneskers eksponering for kemiske stoffer både i ernærings-, miljø- og arbejdsmiljømæssig sammenhæng. På arbejdsmiljøområdet indgår NOAEL-værdien fra dyreforsøg sammen med anden information i udarbejdelsen af forslag til grænseværdier for kemiske stoffer. I andre sammen-

hænge (fx levnedsmiddelområdet) fastsættes der ud fra NOAEL-værdien en acceptabel daglig indtagelse, ADI, ved anvendelse af en sikkerhedsfaktor, der skal tage højde for de forskelle, der måtte være mellem effekterne i dyremodellen og hos mennesket efter eksponeringen. ADI-værdien, udtrykt i mg af det kemiske stof pr kg legemsvægt pr dag over et helt liv, danner sammen med en vurdering af indtagelsen af det enkelte levnedsmiddel eller grupper af flere levnedsmidler basis for fastsættelse af restkoncentrationer. Herigennem fastsættes, hvor meget der må bruges af et kemikalie fx et levnedsmiddeltilsætningsstof. Det kan dreje sig om et konserveringsstof, fortykningsmidler, sødestof eller farvestof. Tilsvarende opererer man for egentlige forurenninger med en tolerabel daglig indtagelse, TDI-værdi, der defineres analogt med ADI. Der anvendes ofte en større sikkerhedsfaktor end de 100, der normalt bruges ved fastsættelse af ADI-værdien. Dette sidste forhold begrundes bl.a. med, at de foreliggende toksikologiske resultater er knap så omfattende, som man kunne ønske sig.

Kemiske stoffer klassificeres og mærkes i henhold til deres iboende egenskaber, dvs efter deres evne eller potentiale mht at fremkalde en skadelig effekt i form af kræft, fosterskader, nedsat fertilitet mv hos mennesker. Data fra dyreeksperimentelle toksikologiske undersøgelser udgør oftest det overvejende grundlag for en sådan klassificering. Et kemisk stof kan eksempelvis blive placeret i kategori 1 som et reproduktionstoksisk stof, mærkes T, "giftigt" og R-sætningen "Kan skade forplantningsevnen". Det kan enten begrundes i en human evidens for en sådan effekt (kategori Rep 1, stoffer, der forringer menneskers forplantningsevne), eller bero på en klar dokumentation fra dyreeksperimentelle undersøgelser (kategori Rep 2, stoffer, der bør anses for at forringe menneskers forplantningsevne). Disse regler er beskrevet i Bekendtgørelse om klassificering, emballering, mærkning, salg og opbevaring af kemiske stoffer og produkter (se endvidere basisbog om kemikalier og produkter i arbejdsmiljøet). Af dette eksempel fremgår den store betydning, som dyreeksperimentelle data har i risikovurderingen, hvor sådanne data vurderes på lige fod med resultater fra observationer hos mennesker.

Ovenstående eksempler viser, at forsøgsresultater fra forsøgsdyr bruges i risikovurderingen for mennesker. Selvom der er videnskabelige belæg og et lovgivningsgrundlag for dette, skal man i vurderingen altid have for øje, at der naturligt vil være forbehold og begrænsninger ved en sådan fremgangsmåde. Dyremodeller vil aldrig give det endelige, men kun et tilnærmelsesvis svar på risikoen hos mennesker, da ingen enkelt dyremodel nogensinde kan være et modstykke til forholdene hos mennesker. Ud over artsbarrieren er der store forskelle mellem forsøgs-

situationen og situationen, hvor mennesker eksponeres.

Hvor man i undersøgelser med forsøgsdyr overvejende opererer med høj, toksisk og veldefineret dosis samt grupper af unge, raske og genetisk veldefinerede individer under veldefinerede forsøgsforhold, kun udsat for ét teststof, er situationen en ganske anden for mennesker. Her er oftest tale om lave doser, tilfældig og varieret eksponering, mennesker i alle aldre, syge og raske med vidt forskellige kostvaner og leveforhold, der er udsat for mange forskellige, ikke veldefinerede forhold.

Alle disse kritiske forhold nødvendiggør en nøje faglig, toksikologisk vurdering i hvert enkelt tilfælde. I vurderingen vil der altid indgå kritiske elementer såsom 1) ekstrapolation fra forsøgsdyr til mennesker inklusive de variationer, der måtte være i data fra forskellige forsøgsdyrearter og forsøgsdyrestammer, og de variationer, der er i en heterogen befolkning, og 2) forskelle i forsøgssituationen generelt i forhold til de betingelser, der er relevante for mennesker, herunder også en eventuel ekstrapolation fra højdosis-området i de dyreeksperimentelle undersøgelser til de oftest lave doser, der er relevante for den humane eksponering. Tillige skal en vurdering også indeholde begrænsningen i den toksikologiske undersøgelses følsomhed, hvor bl.a. antallet af forsøgsdyr sætter en begrænsning for testens evne til at opfange svage skadelige effekter. Generelt må det konkluderes, at dyremodeller er værdifulde og har stor betydning ved forudsigelsen af mulige effekter hos mennesker. Dog har dyremodeller en række begrænsninger. En effekt påvist i en dyreeksperimentel undersøgelse peger på, at en mulig effekt kan opstå hos mennesker ved tilsvarende eksponering. Derimod vil fravær af effekt i en dyreeksperimentel undersøgelse ikke uden videre kunne tolkes således, at en effekt ikke vil kunne opstå hos mennesker. De toksikologiske undersøgelser kan i mange tilfælde påvise et eksponeringsniveau, der med al sandsynlighed ikke medfører en sundhedsrisiko hos mennesker, men der vil aldrig kunne fastsættes en nul-risiko.

Udviklingstendenser

Anvendelsen af forsøgsdyr i toksikologiske undersøgelser udgør et meget vigtigt element i håndteringen af kemiske stoffer i samfundet. De dyreeksperimentelle toksikologiske undersøgelser, der indgår som et led i lovgivningen, kan generelt set udpege de skadelige kemiske stoffer og påvise arten af den toksikologiske effekt (kvalitativ vurdering), ligesom de giver information om,

ved hvilken eksponering en eventuel effekt opstår (kvantitativ vurdering). Når det gælder den biologiske mekanisme (toksikodynamik, mekanistisk vurdering), må man nok konstatere, at guideline-undersøgelserne er mindre dækkende. Dette sidste udgør en begrænsning i det undersøgelsesprogram, de kemiske stoffer skal igennem. Mere viden om de biologiske processer, der ligger til grund for de i forsøgsdyrene påviste effekter, vil forbedre det videnskabelige grundlag for fortolkningen af data og i visse tilfælde reducere de sikkerhedsfaktorer, der anvendes i risikovurderingen. Hidtil har det toksikologiske undersøgelsesprogram fokuseret på at beskrive en effekt og bestemme en eventuel NOAEL-værdi. Imidlertid vil udviklingen som en følge af erkendelsen af den tilgrundliggende mekanismes betydning for tolkningen af en toksikologisk effekt udvikle sig hen imod et toksikologisk undersøgelsesprogram, hvori der indgår nye testmetoder til belysning af de biologiske mekanismer. Dette vil medføre introduktion af mere sofistikerede testmetoder i veldefinerede forsøgsdyrsmodeller, der i sidste ende vil indebære den mulighed, at forbruget af forsøgsdyr vil kunne reduceres.

Litteratur

- Allaben WT, Turturro A, Leakey JEA, Seng JE, Hart RW. FDA points-to-consider documents: The need for dietary control for the reduction of experimental variability within animal assays and the use of dietary restriction to achieve dietary control. *Toxicologic pathology* 1996;24(6):776-81.
- Barclay RJ, Herbert WJ, Poole TB. The disturbance index: A behavioural method of assessing the severity of common laboratory procedures on rodents. UFAW Animal Welfare Research Report No. 2. Universities Federation for Animal Welfare, Hertfordshire, England, 1988.
- Calabrese EJ. Principles of animal extrapolation. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York, 1983.
- Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E-M, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. *Laboratory Animals* 1996;30:293-16.
- Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E-M, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. *Laboratory Animals* 1997;31:1-32.

- Davidson IWF, Parker JC, Beliles RP. Biological basis for extrapolation across mammalian species. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1986;6:211-37.
- Det Dyreetiske Råd. Udtalelse om dyreforsøg, Justitsministeriet 1992.
- Dyreforsøgstilsynet. Retningslinier for anbringelse og pasning af dyr. Dyreforsøgstilsynet 1990.
- Festing MFW. The scope for improving the design of laboratory animal experiments. *Laboratory Animals* 1992;26:256-67.
- Festing MFW. Genetic factors in neurotoxicology and neuropharmacology: a critical evaluation of the use of genetics as a research tool. *Experientia* 1991;47:990-97.
- Festing MFW. Genetic variation in outbred rats and mice and its implications for toxicological screening. *Journal of Experimental Animal Science* 1993;35: 210-20.
- Green T. Species differences in carcinogenicity: the role of metabolism in human risk evaluation. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis* 1990;10:103-13.
- Hart RW, Neumann DA, Robertson RT. Dietary restriction. Implications for the design and interpretation of toxicity and carcinogenicity studies. International Life Sciences Institute, ILSI Press, Washington, DC 1995.
- Johannsen FR. Risk assessment of carcinogenic and noncarcinogenic chemicals. *Toxicology* 1990;20(5):341-62.
- Justitsministeriet. Bekendtgørelse af lov om dyreforsøg til lov nr. 470 af 30 juni 1993.
- Levnedsmiddelstyrelsen. Kvantitativ risikovurdering af kræftfremkaldende stoffer. Levnedsmiddelstyrelsen, Sundhedsministeriet, Søborg 1990.
- Meyer O. Implications of animal welfare on toxicity testing. *Human & Experimental Toxicology* 1993;12:516-21.
- Novacek MJ. Where do rabbits and kin fit in? *Nature* 1996;379:299.
- OECD. OECD guidelines for testing of chemicals, section 4 - Health effects, Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris 1996.
- OECD. Guidance document for development of OECD guidelines for testing of chemicals. Environment monograph no. 76, OECD series on the test guidelines programme, number 1. Environment Directorate, Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris 1995.
- Schou JS. Toksikologi. Om kemiske skadevirkningers opståen, forudsigelse, forebyggelse og behandling. Nyt Nordisk Forlag Arnold Busck, København 1984.

- Svendsen P, Hau J. Handbook of laboratory animal science. Volume I. Selection and handling of animals in biomedical research. CRC Press, London 1994.
- Svendsen P, Hau J, Handbook of Laboratory Animal Science. Volume II. Animal Models. CRC Press, London 1994.
- Voisin EM, Ruthsatz M, Collins JM, Hoyle PC. Extrapolation of animal toxicity to humans: interspecies comparisons in drug development. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1990;12:107-16.
- Zbinden G. Predictive value of animal studies in toxicology. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 1991;14:167-77.

KAPITEL 4

In vitro forsøg

*Eva Selzer
Rasmussen*

In vitro forsøg

På verdensplan er der en stærkt øget interesse for brug af alternative metoder til dyreforsøg. Spørgsmålet om muligheder for erstatning af toksikologiske dyreforsøg med andre metoder har været genstand for en meget omfattende debat, og der har især været fokuseret på test af kosmetik. Interessen for de alternative metoder har været størst inden for bedømmelse af akutte giftvirkninger og lokalirriterende effekter af kemiske stoffer, hvor dyreforsøgene er blevet intensivt kritiseret ud fra etiske overvejelser. Før alternative tests kan tages i brug, skal in vitro (reagensglas) forsøgenes evne til at forudsige toksiske effekter for mennesker på en pålidelig måde dog dokumenteres. Kravene til dokumentation af de nye alternative tests er langt større end til de velkendte dyreforsøg. Brug af in vitro metoder bygger primært på anvendelsen af modeller af biologiske mekanismer, hvor dyreforsøgene i mange tilfælde bygger på ligheder (analogier) mellem mennesker og dyr. Denne fundamentale forskel vil formentlig medføre store ændringer i de helt grundlæggende antagelser og tankegange i toksikologien i takt med in vitro metodernes øgede betydning. Derfor indebærer in vitro toksikologiens udvikling en overskridelse af betydelige barrierer på sin vej mod accept.

Definitioner i in vitro toksikologien

In vitro forsøg for genotoksiske effekter (ændring af arveanlæg) har gennem de sidste 20 år været brugt regulatorisk. Sådanne tests med bakterier og celler fra pattedyr, herunder mennesker, er generelt blevet accepteret som supplementer til dyreforsøg til vurdering af stoffers potentielle kræftfremkaldende virkning. Der er nu udviklet flere hundrede nye in vitro tests, som foreslås

brugt ved bedømmelse af mange forskellige typer toksikologiske effekter (Rasmussen, 1995). In vitro metoderne omfatter en lang række meget forskellige metoder. Fysisk-kemiske data og struktur-aktivitets modeller bruges ofte ved den indledende vurdering af stoffers og materials giftvirkninger. Der er desuden udviklet nogle simple fysisk-kemiske in vitro tests til brug ved bedømmelse af stoffers ætsende og lokalirriterende potentiale. Den største gruppe af in vitro tests bygger dog på bedømmelse af giftvirkninger på celler fra mennesker eller pattedyr, men enkelte in vitro tests med bakterier, svampe, planter og hvirvelløse dyr bliver tillige anvendt. In vitro testsystemer omfatter også brug af isolerede organer fra dyr eller mennesker (fx hud eller hornhinder) eller af hønseæg med levende fostre. En ny type in vitro tests med humane væv, der rekonstrueres ud fra enkelte celler, er under udvikling. Brug af sådanne vævsmodeller har givet lovende overensstemmelser med resultater fra dyreforsøg og humane data på en lang række områder.

In vitro toksikologiens grundliggende synsvinkel er at henføre effekter, der ses i de hele organismer, til ændringer af cellulære funktioner. Kemiske stoffer kan virke på forskellige niveauer af cellulær organisation. Det mest fundamentale niveau er påvirkning af strukturer og funktioner, der er fælles for stort set alle celler. Dette kaldes almene cellefunktioner. Der kan fx være tale om påvirkning af cellemembranen eller af cellens stofskifteprocesser (metabolisme). De fleste celler har imidlertid også specialiserede funktioner, fx kan de have bevægelige fimrehår (cilier) eller evne til sammentrækning (kontraktilitet). Påvirkning af sådanne funktioner kan medføre organspecifikke effekter. De almene cellefunktioner danner dog altid grundlag for de mere specialiserede funktioner. Derfor vil giftvirkninger på basale cellefunktioner også kunne forstyrre cellers organspecifikke funktioner. Endelig kan der være tale om en mere generel toksicitet, hvor forholdet mellem forskellige celler eller organer ændres af toksiske stoffer, fx gennem virkningen af hormoner eller af stoffer, der overfører nerveimpulser (neurotransmittere).

Påvirkning af de almene cellefunktioner kan undersøges i simple systemer, hvor der anvendes forholdsvis uspecialiserede celler (cellelinier). Cellelinier startes ud fra enkelte celler fra et dyr eller et menneske efter forudgående isolering og opformering i et passende næringsmedium. Der findes cellelinier med kortere eller mere ubegrænset levetid (permanente cellelinier). Cellerne, der anvendes i permanente cellelinier, har ofte en række egenskaber tilfælles med kræftceller. Der kan være store genetiske ændringer i forhold til organismens normale celler. Cellerne mister også typisk store dele af deres specialiserede egenskaber. Evnen til at omsætte (metabolisere) fremmedstoffer ændres ofte,

således at cellerne ikke kan aktivere giftige forbindelser. Til etablering af cellelinier kræves meget få dyr, og metoderne er generelt hurtige og billige.

Påvirkning af specialiserede cellefunktioner kan undersøges i primære cellekulturer. Her tages normale celler ud af dyr eller mennesker, og cellerne kan leve i kortere tid i laboratoriet. Forskellige specialiserede cellefunktioner kan undersøges, men ofte mister en del af disse egenskaber hurtigt under dyrkningsprocessen. Anvendelsen af primære kulturer har bl.a. den ulempe, at de ofte er mere kostbare og vanskelige at udføre end dyreforsøg. Primære leverceller (hepatocytter) bruges ofte til screening af stoffers giftighed, fordi disse celler indeholder store mængder af enzymer, der aktiverer giftstoffer. Primære celler fra overhuden (keratinocytter) anvendes fx ofte til screening af stoffers lokalirriterende effekt. Dette har været specielt succesfuldt, når cellerne dyrkes i vævskulturer, som kan opnå en stor lighed med det oprindelige væv.

In vitro forsøg vedrørende receptorbetinget toksicitet har bidraget til et meget betydelig fald i antallet af dyreforsøg, der anvendes i farmakologien, men området har endnu ikke fundet stor anvendelse i den regulatoriske toksikologi. Der udføres fx mange farmakologiske mekanismestudier, hvor hormoners og neurotransmitteres virkning i cellerne undersøges i in vitro systemer. Resultater fra forsøg med neurotransmittere har for en række neurotoksiske stoffer vist gode overensstemmelser med resultater fra LD₅₀-forsøg med gnavere, og forsøg med isolerede receptorer kan have et fremtidigt potentiale blandt de toksikologiske standardtests.

Opdelingen af giftvirkninger i påvirkninger af almene cellefunktioner, organspecifikke funktioner og mere generelle, ofte receptorbetingede, funktioner er fundamental for forståelsen af mulighederne for at anvende in vitro tests med celler inden for toksikologien. Afgørende er, hvor stor en del af de giftvirkninger, som kan observeres in vivo, der skyldes påvirkning af almene cellefunktioner. Flere nyere undersøgelser tyder på, at påvirkning af almene cellefunktioner kan have en væsentlig større betydning end tidligere antaget.

Forholdet omkring almene cellefunktioners andel i observerede giftvirkninger i dyreforsøg og i mennesker kan bl.a. undersøges ved sammenligning af graden af toksiske effekter i cellelinier og i primære celler. Indledende undersøgelser tyder på, at visse neurotoksiske effekter kan skyldes påvirkning af basale cellefunktioner i centralnervesystemet, og et større valideringsprogram er nu igangsat, hvor en række neurotoksiske stoffer testes i primære kulturer med nerveceller og i cellelinier af forskellig oprindelse. Forsøg med primære hornhindeceller eller med pri-

mære keratinocytter, dyrket som enkeltlagskulturer, er ikke påvist at være bedre til forudsigelse af øjen- eller hudirritation in vivo end forsøg med cellelinier, mens vævsmodeller har fungeret bedre (Brantom et al., 1997). De ovennævnte undersøgelser tyder på, at effekter på almene cellefunktioner kan være en god indikator for påvirkning af specialiserede cellulære funktioner, specielt vedrørende lokalirritation.

Forholdet kan også vurderes ved sammenligning af graden af effekter i in vitro systemer med celler med in vivo respons i dyr eller mennesker. Der er udført en lang række valideringsundersøgelser af denne type i enkelte laboratorier, typisk med ca 50 stoffer. De foreløbige resultater underbygger, at en relativt stor procentdel af akut toksiske effekter kan forklares med almene giftvirkninger på celler, og at vævsmodeller med celler kan være en særdeles god indikator for et stofs øjenirriterende evne. De ovennævnte tendenser bør fortolkes med forsigtighed. Et skævt stofvalg med overvægt af stoffer, der påvirker almene cellefunktioner, vil kunne medføre overdrevent optimistiske konklusioner. Dette sker ofte ved en tidlige fase i valideringen af nye testsystemer. Ved udvikling af in vitro tests for genotoksiske effekter som indikatorer for muligt kræftfremkaldende effekter sås dette meget tydeligt. På trods af dette har testene for genotoksiske effekter, der er en meget væsentlig toksikologisk mekanisme, alligevel fået en meget stor anvendelse som screeningstests.

Begrænsninger ved in vitro forsøg

Anvendelsen af forskellige typer af in vitro systemer frembyder forskellige tekniske problemer, der naturligt peger mod en begrænset anvendelse af en række systemer. Begrænsningerne ses fx ved brug af kulturer af celler, der dyrkes i enkeltlag på bunden af flasker under en stor mængde vandigt medium. Det største tilbagevendende problem i en længere række stort opsatte og yderst ressourcekrævende valideringsundersøgelser har været, at de klassiske cellekulturer må anses for at være egnede til test af vandopløselige stoffer som tensider, men uanvendelige til test af fedtopløselige og faste stoffer. Ofte anvendes helt ufyσιologiske metoder som brug af organiske opløsningsmidler eller behandling med ultralyd til at bringe teststofferne i en relativt ensartet forbindelse med cellerne, og tillige er en række forhold omkring test af flygtige stoffer i cellekulturer langt fra løst tilfredsstillende endnu.

Forholdet omkring metabolisk aktivering af giftstoffer i cellekulturer er ikke afklaret, og for tiden udføres de fleste tests i celler med meget begrænsede muligheder for relevant metabolisk

aktivering af teststofferne. Det forekommer også at være meget væsentligt at medtage modeller for biologiske barrierer ved brug af *in vitro* systemer. Dette sker kun i meget begrænset omfang i dag. Hornlaget (stratum corneum) i huden danner fx en barriere mod fremmedstoffer. Laget består af forhornede celler og af fedtstoffer, der forsejler mellemrummene mellem dem. Både fedtopløselige stoffer og stoffer, der kan opløse horncellerne, kan let trænge ned til de underliggende cellelag. I mange undersøgelser er stoffer testet direkte i cellelinier uden hensyntagen til denne barriere. Herved overvurderes stoffernes giftighed. Doseringen i de udførte *in vitro* og *in vivo* forsøg er desuden sjældent direkte sammenlignelig. Doser indgivet i dyrefoder ved LD₅₀-forsøg og som flydende eller fast stof i øjenirritationstests er ofte blevet direkte sammenlignet med stofkoncentrationer brugt i forsøg med cellekulturer.

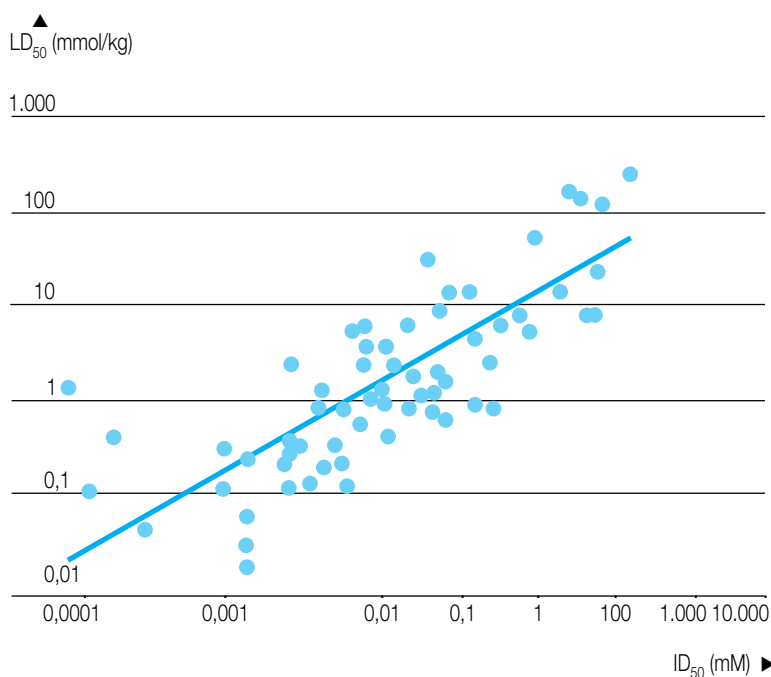
Anvendelse af rekonstruerede vævsmodeller i stedet for celler i enkeltlag vil formentlig kunne løse en række af de ovenfor anførte tekniske begrænsninger, fordi teststoffer og materialer kan sættes direkte på vævet som i dyreforsøg. Det er teoretisk muligt, at sådanne *in vitro* modeller vil kunne erstatte dyreforsøg for lokale effekter som øjen- og hudirritation. Hvis *in vitro* modeller skal kunne bruges til en kvantitativ forudsigelse af mere systemiske effekter, vil en samtidig brug af toksikodynamiske modeller være nødvendig. Væsentlige parametre i de toksikodynamiske modeller, der i dag søges udviklet til dette formål, er forudsigelse af stoffets evne til at krydse biologiske barrierer, evnen til at trænge ind i målorganer og -celler, og til at binde sig til cellebestanddele eller serum, samt spredningen af stoffet i kroppens vand- og fedtfaser. Simple fysisk-kemiske forhold som stoffets grad af vandopløselighed, evnen til at binde sig til proteiner, molekylestørrelser og ioniseringskonstanter er væsentlige i denne sammenhæng, og der arbejdes også intensivt med udvikling af *in vitro* modeller for forskellige biologiske barrierer.

Vurdering af *in vitro* forsøgs evne til at forudsige effekter

Vurderingen af alternative metoders egnethed (validitet) har hidtil været koncentreret omkring bedømmelse af testenes reproducerbarhed, mens det har været meget uklart, hvordan det bør vurderes, om en metode giver en korrekt forudsigelse af den toksiske effekt i den intakte organisme. Dette er u hensigtsmæssigt alene ud fra det forhold, at *in vitro* metoder ofte er betydeligt mere reproducerbare end de tilsvarende dyreforsøg (Bruner et al., 1996).

Data fra en valideringsundersøgelse er hidtil blevet analyseret

efter projektets afslutning mhp at afgøre, om metoden kunne forudsige den toksiske effekt. Ofte har meget primitive metoder været anvendt ved denne bedømmelse, fx direkte sammenligninger af cytotoxicitet og LD₅₀-værdier fra dyreforsøg vha lineær regression. Herved ses der bort fra alle toksikodynamiske overvejelser og fra det forhold, at sammenhængene mellem in vitro rådata og in vivo resultater kun lejlighedsvis er lineære.



Figur 4.1. Sammenhæng mellem intraperitoneale LD₅₀-værdier fra museforsøg og 68 stoffers in vitro toksicitet i musefibroblaster udtrykt ved totalt cellulært proteinindhold. ID₅₀-værdierne er de koncentrationer af teststofferne, der reducerer proteinindholdet med 50%. Begge akser er med logaritmisk skala, $r = 0,80$. (Omtegnet fra Ball og Fentem, 1992).

I valideringsundersøgelser er det med tiden blevet mere almindeligt at anvende forudsigelsesmodeller, der omsætter et in vitro resultat til en forudsigelse af in vivo toksiciteten. Hvis in vitro metoden er tilstrækkeligt udviklet, kan modellen opstilles inden undersøgelsens start. Herved bliver det muligt at vurdere, om de nye metoder er specifikke for det anvendte referencesæt af teststoffer, eller om de kan have en mere universel anvendelighed, og om den fundne variation er repræsentativ for den alternative metode og dyreforsøget.

En forudsigelsesmodel bør omfatte en definition af testens formål, fx om testen skal forudsige maksimale scoringsværdier

(MAS-værdier) fra en øjenirritationstest, og hvilke klasser af kemiske stoffer testen kan anvendes til. Yderligere må den indeholde en definition af de mulige typer af resultater, der forventes opnået, fx kvalitative eller kvantitative data eller ikke-kvalificerede resultater. Desuden må den omfatte en formel for omsættningen af et resultat opnået med *in vitro* metoden til en forudsigelse af den ønskede *in vivo* effekt. Her kan der være tale om fx simple klassificeringsskemaer til sofistikerede matematiske modeller. Endelig må modellen indeholde en indikation af den præcision, hvormed den kan bruges. Variationen for både *in vitro* og *in vivo* eksperimentet bør kunne estimeres, og dette kan danne grundlag for computersimuleringer, der giver et godt indtryk af den forventelige grad af *in vitro/in vivo* overensstemmelse. Graden af usikkerhed i forudsigelsen kan angives som procent målepunkter, der falder inden for modellens 95% konfidensinterval. Endelig bør modellen være relevant, således at der opnås forudsigelser, der er tilstrækkeligt akkurate og præcise til at danne grundlag for korrekte risikovurderinger (Bruner et al., 1996).

Fysisk-kemiske metoder

I nogle tilfælde er det muligt at forudsige stoffers giftighed ved brug af simple fysisk-kemiske metoder. Et eksempel er anvendelse af stoffers fordelingskoefficient ($\log P$, dvs stoffets fordeling i hhv vandfase og fedtfase). $\log P$ er formentlig særdeles væsentlig for vurdering af et stofs evne til at trænge gennem biologiske barrierer. Dette forhold kan især få stor betydning for vurdering af stoffers påvirkning af centralnervesystemet, og af deres lokalirriterende virkninger på hud og øjne.

Ifølge OECD's guidelines for afprøvning af stoffer for øjen- og hudirritation (guideline 404 og 405) er det endvidere muligt at undlade at teste stærkt sure og stærkt basiske stoffer i dyreforsøg, hvis der må forventes kraftige reaktioner. Sådanne stoffer er ofte stærkt øjenirriterende, men der er dog fundet flere undtagelser fra dette. En undersøgelse har yderligere vist, at opløsningsbufferkapacitet (evnen til at opretholde en bestemt surhedsgrad) er et bedre mål for øjenirriterende potentialer end pH-værdier alene. I de ovennævnte guidelines er der også givet mulighed for at tage højde for stoffers bufferkapacitet ved vurdering af stoffers muligt lokalirriterende effekter. Materialer, der er påvist at være ætsende eller stærkt lokalirriterende i undersøgelser for hudirritation, skal ikke også undersøges ved forsøg for øjenirrita-

tion. For flere stoffer er det vist, at et kraftigt respons i hudirritationsforsøg ikke altid hænger sammen med et stærkt øjenirriterende potentiale, men for de fleste stoffer må det dog antages, at ætsende eller stærkt hudirriterende stoffer vil påvirke øjet voldsomt. OECD's guidelines giver også mulighed for at vælge at undlade at undersøge stoffer i dyreforsøg for øjenirriterende effekter, hvis de har vist potentielle ætsende eller stærkt lokalirriterende egenskaber i velvaliderede in vitro systemer. Det er dog ikke præciseret, hvilke typer in vitro systemer der kan anses for tilstrækkeligt validerede til at kunne anvendes i denne sammenhæng.

Der er udviklet en række modeller for sammenhængen mellem stoffers fysisk-kemiske egenskaber og deres biologiske aktivitet (Quantitative Structure-Activity Relationships, QSAR-metoder). EDB-programmer baseret på brug af QSAR-systemer bruges til at forudsige resultater af fx carcinogenicitetstests, teratogenicitetstests og tests for allergi og lokalirritation. Et stofs øjenirriterende potentiale kan fx ofte forudsiges ud fra dets kemiske struktur. Mange klasser af kemikalier (fx visse organiske siliconeforbindelser og estre) er meget sjældent øjenirriterende, mens andre grupper ofte er irriterende (fx forbindelser med hydroxylgrupper). Både kvantitative og kvalitative ændringer i responset kan opstå ved meget små ændringer i stoffers kemiske struktur. Fx er kortkædede alkoholer generelt mindre øjenirriterende end alkoholer med noget længere kulstofkæder, hvorefter der igen sker et fald i det øjenirriterende potentiale for meget langkædede alkoholer. Struktur-aktivitets modeller har givet en meget god forudsigelse af stoffers ætsende virkning, mens evnen til at forudsige hudirritation var ringe (Barratt, 1996). Der er udviklet et computerprogram til forudsigelse af stoffers toksicitet. Databasen bag programmet består af 112 mutagene og 138 ikke-mutagene stoffer. Forudsigelsen var 98% korrekt mht påvisning af mutagene stoffer, men 30% af de ikke-mutagene stoffer blev dog også bedømt som mutagene. Systemet har haft sin største succes i identificeringen af stoffers evne til at inducere allergi ved hudkontakt. Her blev 132 ud af 135 hudsensibiliserende stoffer korrekt identificeret, og det blev vist, at to af de sidste tre stoffer giver allergi pga urenheder (Barratt et al., 1994).

Der også blevet udviklet en række simple fysisk-kemiske tests for lokalirritation og ætsning, der er baserede på stoffers reaktion med en matriks af planteproteiner. Et kommercielt tilgængeligt testkit, EYTEX™ testen, byggede fx på bedømmelse af stofernes evne til at binde sig til en proteinmatriks, hvorved den bliver uigennemsigtig. Efter teststoffets tilsætning måltes turbiditeten fotometrisk og omsattes til en testværdi. Testsystemet var en model for dannelse af uigennemsigtige områder (opacitet) i

øjets hornhinde. EYTEX™ testen er en af de mest afprøvede in vitro tests til forsøg med øjenirriterende stoffer og materialer. EYTEX™ blev produceret af firmaet In vitro International, USA. Firmaet etablerede en database med resultater fra test af mere end 1.500 prøver, der viste, at testen giver en overensstemmelse på ca 90% til øjenirritationsforsøg med kaniner. Flere uafhængige forskningsgrupper har dog opnået meget dårlige resultater med testen, som fx ikke gav signifikant overensstemmelse med in vivo øjenirritationsdata i to store valideringsprogrammer. Metoden kan derfor ikke generelt anses for egnet til test for øjenirritation, og produktion og salg af testkittet er nu standset. Et tilsvarende testkit, CORROSITEX™ testen, for ætsning blev også udviklet af In vitro International. Testsystemet bestod af et proteindækket cellulosefilter (en biobarriere) og et kemisk detektionssystem med metalsalte. Testen har vist en relativt høj grad af overensstemmelse med data om ætsende virkning, og den blev i 1993 accepteret til klassifikation og mærkning af ætsende stoffer i USA. Til trods for dette er produktion og salg af CORROSITEX™ modellen nu også ophørt.

Tests for almene giftvirkninger på celler

Der er udviklet flere hundrede metoder med cellelinier til screening af kemiske stoffers giftvirkninger (se tabel 4.1). Der er dog fundet en så stor grad af overensstemmelse mellem disse metoder, at området med fordel vil kunne forsimples meget. Ved testing af 50 stoffer i 68 in vitro tests er det fx fundet, at hverken cellernes oprindelse (dyreart og organtype) eller det undersøgte endpoint (fx ændring af cellernes antal, proteinindhold eller stofskifte) havde speciel betydning for resultaterne. Resultaterne

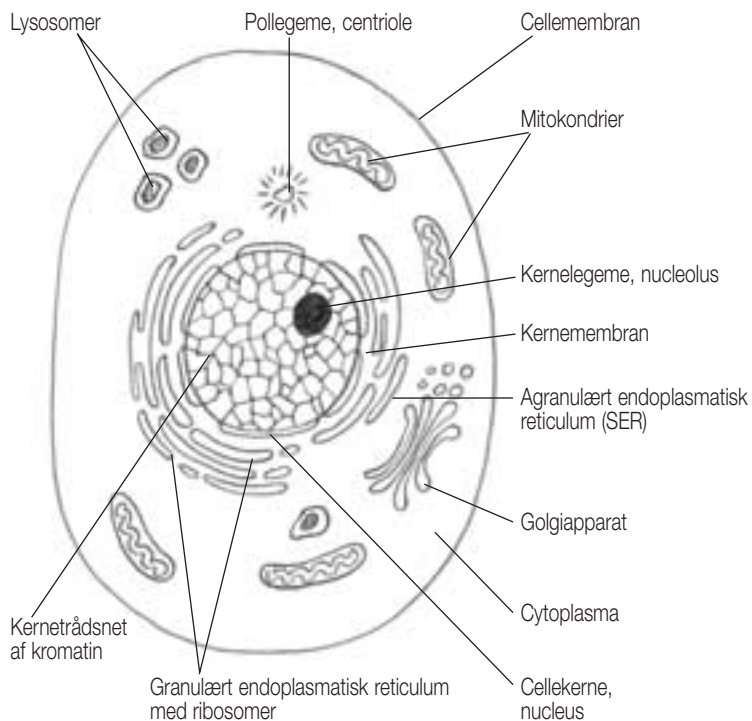
Tabel 4.1. Hyppigt anvendte metoder til bedømmelse af almen celletoksicitet.

Kriterium	Metode
Morfologi	Mikroskopisk analyse af cellers og cellekerners form og størrelse, intercellulære kontakter og vakuoledannelse.
Viabilitet	Optagelse af vitalfarver, løsgørelse af celler.
Vækst	Øgning i antallet af celler eller cellebestanddele, kolonidannelse.
Membranskader	Udskillelse af enzymer, ioner eller andre stoffer fra normale celler.
Metaboliske effekter	Hæmning af mitokondriers funktion og af metabolisk samarbejde mellem celler.

blev dog forskellige, hvis celler i meget lang eller meget kort tid blev udsat for teststoffet, sammenlignet med eksponeringstider på 24 til 72 timer (Clemedson et al., 1996).

Biologisk baggrund for cellebeskadigelse

Kemiske stoffer beskadiger ofte celler ved direkte eller gennem dannelsen af reaktive stofskifteprodukter at binde sig til vigtige bestanddele i cellerne, fx fedtstoffer, proteiner eller DNA. Men en anden væsentlig kilde til beskadigelse af celler er, at stoffer ændrer det fysisk-kemiske miljø i cellen (fx pH, iltkoncentration og ion-sammensætning).



Figur 4.2. Schematisk fremstilling af celle med organeller. (Omtegnet fra Edelfors og Ravn-Jensen, 1984).

Fig. 4.2 viser en typisk celle fra et menneske eller et dyr. Cellemembranen består hovedsagelig af proteiner og specielle fedtstoffer (bl.a. fosfolipider og umættede fedtsyrer). Fedtopløselige stoffer og stoffer uden ladning kan passere membranen forholdsvis uhindret gennem fedtlaget. Vandopløselige eller ladede

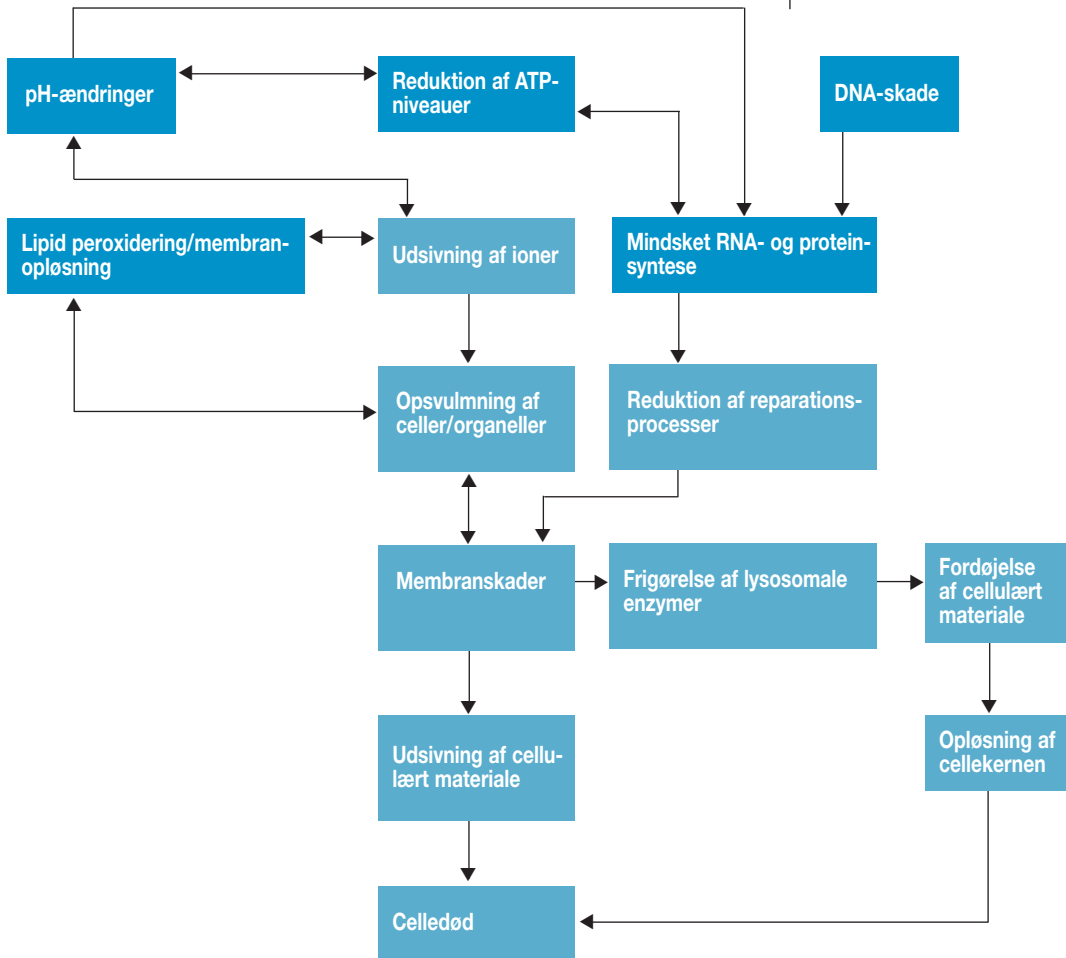
molekyler (ioner) kan trænge gennem membranen vha aktive transport-mekanismer, der er energikrævende. Flere stoffer, deriblandt tungmetaller, ioner, organiske opløsningsmidler, aldehyder samt syrer og baser, kan direkte skade cellemembranen ved at ændre på forhold omkring den aktive stoftransport eller gennem ændringer af membranens fedtstoffer og proteiner. Ved omsætning af en række stoffer i cellen kan der dannes nogle meget reaktive forbindelser (frie radikaler). Membranens umættede fedtsyrer kan angribes af sådanne stoffer, hvad der kan medføre en kædereaktion, der kaldes lipid peroxidation. Ved kædereaktionen omdannes fedtstofferne til nye reaktive stoffer, der kan forårsage direkte eller indirekte skader på membranen.

Mange cellegifte udøver deres effekt ved at binde sig til vigtige molekyler i cellerne. De fleste af de cellegifte, der anvendes ved behandling af kræft, dræber kræftcellerne ved at binde sig til DNA. Bindingen kan medføre, at cellen ikke kan dele sig, fordi dens arvemateriale ikke kan fordobles. Proteinsyntesen bliver også hæmmet eller standset, fordi den tager udgangspunkt i DNA. Giftstoffer kan også påvirke cellers stofskifte ved at hæmme de enzymer, der får stofskifteprocesserne til at forløbe ved legemstemperatur. Enzymerne består af protein, men indeholder også ofte andre stoffer, fx metalioner. Enzymeres aktivitet er endvidere hyppigt afhængig af tilstedeværelsen af metalioner ved reaktionen. Nogle toksiske stoffer hæmmer enzymer ved at binde sig til svovlholdige grupper i enzymernes proteindel (fx arsenik og tungmetaller). Andre enzymhæmmere binder sig til metalioner (fx cyanid, fluorid, oxalsyre og kulilte).

I mitokondrierne dannes og oplagres energi ved dannelsen af et specielt stof, der kaldes ATP. Dette sker ved en proces, der kaldes oxidativ phosphorylering. ATP giver senere energi til særdeles mange reaktioner i cellens stofskifte gennem spaltning af energirige fosfatbindinger. Dannelsen af ATP kræver, at mitokondrierne optager ilt og senere udskiller vand og kuldioxid. Mitokondriegifte, som fx cyanid, metaller og barbiturater, rammer cellens energiforsyning. Dermed hæmmes cellens stofskifte og den aktive transport over cellemembranen. Hæmning af transporten af salte ud fra cellen medfører, at der ophobes vand inde i cellen, så den svulmer op og dør.

Metoder til påvisning af celletoksiske effekter

Der findes talrige mulige metoder til påvisning af giftvirkninger på celler dyrket i kultur, og næsten alle tænkelige metoder er blevet brugt i in vitro toksikologien. En række mulige sammenhænge mellem cellulære skader ses i fig. 4.3.



Figur 4.3. Sammenhænge mellem cellulære skader. Mulige udgangspunkter for giftvirkninger findes i de mørke kasser.

Ved brug af mikroskop kan det ses, at kraftigt giftpåvirkede celler ændrer udseende. Svage toksiske påvirkninger viser sig bl.a. i form af en dannelse af små væskeansamlinger i cytoplasma og af små DNA-holdige strukturer omkring cellekernen. Stærkt toksiske påvirkninger viser sig i form af kraftige ændringer, hvor de normale strukturer ikke kan gendannes. Der sker en opsvulmning af cytoplasma og dannelsen af store vakuoler

heri, brud på cellemembranen og udsivning af cytoplasma samt opløsning af cellekernen. Bedømmelse af synlige tegn på cytotoxicitet indgår i mange testsystemer, men der er også udviklet et HTD (Highest Tolerated Dose) assay, der udelukkende er baseret på observationer af ændringer i cellernes udseende. En meget simpel metode til måling af hæmning af cellevækst er tælling af celler ved brug af mikroskop eller en elektronisk partikel-tæller. En af de ældste metoder til at skelne mellem levende og døde celler er farvning af cellekulturer med trypanblåt, der kun trænger ind i celler med beskadiget cellemembran. Der er dog også udviklet mere sofistikerede tests for cellemembraners gennemtrængelighed, som fx bygger på samtidig farvning med to fluorescerende farvestoffer. Levende celler farves med fluorescein diacetat, der frit gennemtrænger intakte celler, hvor det omdannes til et fluorescerende farvestof, som tilbageholdes i cellen. Derefter farves med ethidiumbromid, der bl.a. farver kernen i celler med beskadiget cellemembran, men ikke kan trænge ind i celler med intakte cellemembraner. Ved kombinationen af de to farveteknikker vil intakte celler fluorescere grønt (cytoplasma), og celler med beskadiget cellemembran vil fluorescere rødt (kernen og RNA).

Celler dyrkes ofte på bunden af flasker eller petriskåle, men døde celler mister fasthæftningen og flyder rundt i mediet, hvor de kan tælles. Opgørelse af celledød ved tælling af løsvrevne celler har i flere undersøgelser vist gode overensstemmelser med LD₅₀-værdier fra forsøg med rotter, og har også været anvendt til at forudsige øjenirritation. Metoden anvendes dog ikke længere, da visse teststoffer fikserer cellerne, således at de ikke løsgøres. I flere sammenhænge undersøges cellers evne til at danne kolonier (kloningseffektivitet) som mål for celletoksiciteten. Cellerne udsås tyndt i mediet og danner senere synlige kolonier på bunden af dyrkningsskålene. Kolonierne fikseres og farves med kryсталviolet, og de kan herefter tælles automatisk. Hæmning af kolonidannelse kan både skyldes celledød og mindsket fasthæftelse. Metoden indgår som standard toksicitetstest i mutationsanalyser med cellekulturer.

Antallet af celler i en kultur kan også opgøres ved bestemmelse af koncentrationen af cellebestanddele (fx protein eller DNA). Den mest udbredte metode til måling af en cellekulturs vækst er bestemmelse af proteinindholdet i kulturen, og der findes mange forskellige metoder, der kan automatiseres. Et problem ved testen er, at døde celler og fasthæftede dele af celler også bestemmes med. Faktorer, der påvirker proteinsyntesen, vil dog også ændre det totale proteinindhold i cellekulturen. Der er ved test af ca 200 stoffer generelt opnået gode overensstemmelser mellem opgørelse af hæmning af cellevækst ved proteinbe-

stemmelse og LD₅₀-værdier fra forsøg med gnavere. Metoden er også i flere undersøgelser vist at kunne rangordne stoffer korrekt i forhold til in vivo øjenirritations-data.

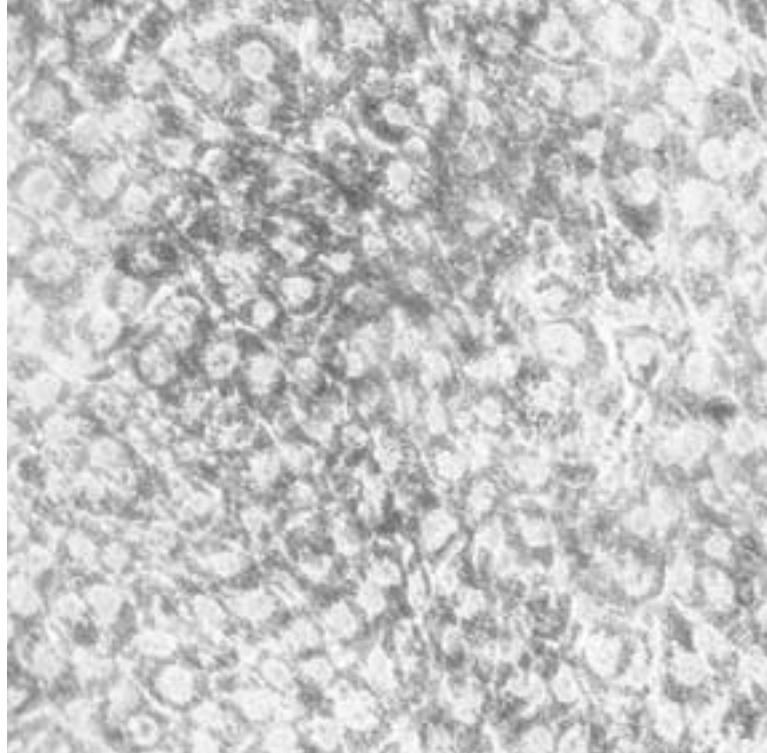
Effekter på cellemembranen kan også afsløres ved påvisning af udsivning af stoffer fra cellerne. Der findes flere klassiske metoder til påvisning af membranskader, hvor udsivning af enzymer fra celler måles. En meget anvendt metode er måling af enzymerne laktat dehydrogenase (LDH) eller sur phosphatase. LDH-aktiviteten kan måles fluorimetrisk eller fotometrisk. Aktiviteten af sur phosphatase kan måles fotometrisk efter tilsætning af en phosphatasereagens, der omdannes til et gult farvestof proportionalt med phosphatasmængden i cellerne. Påvisning af ødelæggelse af røde blodlegemer (hæmolyse) er endvidere en enkel og velegnet teknik til påvisning af effekter på cellemembraner. De røde blodlegemer dyrkes i kultur og udsættes for et teststof. Herefter måles indholdet af hæmoglobin i mediet fotometrisk. Metoden er meget reproducerbar og anses for lovende til test af tensider for øjenirritation.

Flere nyere metoder til påvisning af celletoksicitet tager udgangspunkt i måling af påvirkninger af cellers stofskifte. Metoderne omfatter bl.a. måling af optagelsen af farvestoffer af celler, måling af energirige forbindelser (ATP) i cellerne og bestemmelse af stofskifteprodukter.

En neutralrødt optagelsestest (NRU-test), hvor optagelsen af vitalfarvestoffet neutralrødt i cellers lysosomer måles (se fig. 4.4), er en af de hyppigst anvendte og bedst reproducerbare in vitro tests, der især har været brugt på øjenirritationsområdet. I cellernes lysosomer sker der både en oplagring og en fordøjelse af optaget materiale. Ændring af cellemembranen eller af lysosomernes følsomme membraner resulterer i mindsket optagelse og ophobning af neutralrødt, som ekstraheres fra cellerne og måles fotometrisk. Det vides endnu ikke, om optagelsen af farvestoffet kræver aktiv transport over cellemembranen. Tilbageholdelse af stoffet i cellerne kræver dog, at membranerne er relativt intakte. Neutralrødtoptagelsestesten giver gode overensstemmelser med in vivo øjenirritationsdata for vandopløselige stoffer som tensider. Der er også udviklet en neutralrødt-frigørelsestest, hvor cellerne optager neutralrødt, inden de udsættes for teststof i meget kort tid (1 minut). Herefter måles tabet af neutralrødt fra beskadigede celler. Begge tests har givet gode overensstemmelser med in vivo øjenirritationsdata for vandopløselige stoffer som tensider, mens ingen in vitro test med celler dyrket i monolag har kunnet reproducere in vivo testen for et bredt spekter af stoffer og materialer.

Specielle tests for mitokondrie-gifte er særdeles væsentlige kandidater til in vitro testbatterier. Dette skyldes, at cellelinier

Figur 4.4. Optagelse af farvestoffet neutralrødt i cellers lysosomer. Vitale celler med intakte membraner optager farvestoffet, mens beskadigede celler ikke farves.



ved tilstedeværelse af denne type giftstoffer kan leve videre ved et langsomt ikke-iltkrævende (anaerobt) stofskifte. Derfor vil andre celfunktioner ikke påvirkes i så høj grad, og stofferne vil blive bedømt som mindre giftige, end de er *in vivo*. ATP-indholdet i cellekulturer kan måles ved reaktion med luciferase. Der er tillige udviklet en tetrazolium test (MTT-test), der er baseret på, at et enzym (succinat dehydrogenase) i levende cellers mitokondrier reducerer et vandopløseligt gult tetrazoliumsalt til en uopløselig blå farve. Efter at stoffet er trukket ud fra cellerne, kan mængden af den blå farve måles fotometrisk, og den er direkte proportional med celleantallet. Fordelen ved metoden er, at det kun er antallet af levende celler, der måles. Ved brug af MTT-testen til at analysere vitaliteten af celler i en vævsmodel er der fundet særdeles gode overensstemmelser med øjenirritationsdata (Brantom et al., 1997).

Tests med encellede organismer, planter og hvirvelløse dyr

Tests med bakterier, svampe, planter, dafnier, rejer og andre hvirvelløse dyr søges i stigende grad anvendt til forudsigelse af

human toksicitet. En stor mængde data fra sådanne systemer indsamles i forbindelse med økotoksikologiske afprøvninger af kemiske stoffer. Der er derfor interesse for at undersøge, om disse oplysninger kan udnyttes i flere sammenhænge. Flere økotoksikologiske systemer er blevet afprøvet for evnen til at forudsige akut systemisk toksicitet og lokalirritation, men med ringe succes sammenlignet med mammale in vitro tests.

Testorganismernes fylogenetiske slægtskab med mennesker er formentlig afgørende, idet fx tests med krebsdyr har givet en bedre forudsigelse af LD₅₀-værdier end bakterielle tests (Calleja et al., 1994). En test med pollenrør fra tobaksplanter har givet den hidtil bedste overensstemmelse med humane toksicitetsdata. Når pollenkorn spirer, dannes der pollenrør, der fører de hanlige kønsceller over til de hunlige. Pollenrørs vækst er meget påvirkelig af cytotoxiske stoffer, og væksten kan måles ved mikroskopi eller ved vitalfarvning. Metoden har givet en relativt god overensstemmelse med akut systemiske humane toksicitetsdata for 50 teststoffer ($r = 0,75$), men der er senere opnået en meget ringe forudsigelse af 55 stoffers øjenirriterende potentiale med pollenrørstesten ($r < 0,45$) (Brantom et al., 1997).

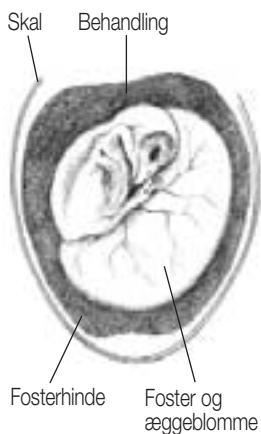
Tests med væv og organer

En række tests med væv og organer har fået en større udbredelse som screeningstests for lokalirritation. De mest anvendte systemer er baseret på brug af isolerede øjne eller hornhinder fra kvæg, kaniner og høns eller af fosterhinder i befrugtede hønseæg. Metoder med isoleret hud fra svin eller mennesker anses for meget lovende til brug ved undersøgelser af ætsning og hudabsorption.

Ved brug af isolerede øjne placeres et teststof på hornhinden, og effekter på det yderste cellelag (epitelet) og hornhindens gennemsigtighed og tykkelse måles. Isolerede hornhinder kan ligeledes dyrkes i vævskulturer, hvor hornhinderne spændes op i et bad med næringsvæske. Teststoffet placeres i den næringsvæske, der enten bader over- eller undersiden af hornhinden. Dannelsen af uigennemsigtighed (opacitet) og cellulære skader i hornhinden bedømmes. Begge metoder har kunnet bruges til påvisning af stærkt øjenbeskadigende stoffer, men har ikke givet gode overensstemmelser med in vivo øjenirritationsdata for et bredt udvalg af stoffer og materialer.

Flere testsystemer udnytter fosterhinden (den chorioallantoide membran, CAM) fra hønseæg med 10 dage gamle fostre som

Figur 4.5. Tegning af, hvordan fosterhinden i hønseæg udsættes for teststoffer. (Fra Lawrence et al., 1990).



test-objekt (se fig. 4.5). Fosterhinden er på dette tidspunkt rigt forsynet med blodkar. Karsystemet står i forbindelse med fosteret gennem et system af arterier og vener, mens der ikke er nerveforbindelser mellem selve membranen og fosteret. Kort efter æggets befrugtning skæres et hul i æggeskallen og i skalmembranen, som lukkes med tape. Teststoffet placeres på 10. dagen efter befrugtningen i en teflonring på fosterhinden. Hullet i æggeskallen lukkes igen, og fosterhinden undersøges for forandringer efter varierende inkubationsperioder eller ved brug af forskellige koncentrationer af et teststof. Der undersøges for fx blodophobning, blødninger, blodkoagulation, ændring af blodkarrenes form og/eller ændringer i hindens struktur. Metoder, hvor der anvendes korte inkubationsperioder, og hvor ændringer i blodkarrene primært undersøges, har givet de bedste overensstemmelser med resultater fra in vivo øjenirritationsforsøg. CAM-tests har kunnet bruges til påvisning af stærkt øjenbeskadigende stoffer, men har ikke givet gode overensstemmelser med in vivo øjenirritationsdata for et bredt udvalg af stoffer og materialer (Balls et al., 1995; Brantom et al., 1997).

Der er udført en del undersøgelser med isoleret hud. Hudstykker kan dyrkes i kultur, og vævets repons på udsættelse for kemiske stoffer kan måles på mange forskellige måder. Teknikker med levende hud i kultur har dog indtil videre vist sig at være af begrænset værdi til brug ved forudsigelse af stoffers hudirriterende evner (ECETOC, 1990).

Måling af fald i den elektriske modstand i dødt hudvæv fra mennesker eller dyr kan anvendes til bedømmelse af virkninger af ætsende stoffer, og denne type tests er accepteret i Storbritannien til påvisning af ætsende virkning. Flere hundrede stoffer er testet, og metoden har givet særdeles gode overensstemmelser med in vivo resultater (Botham et al., 1993).

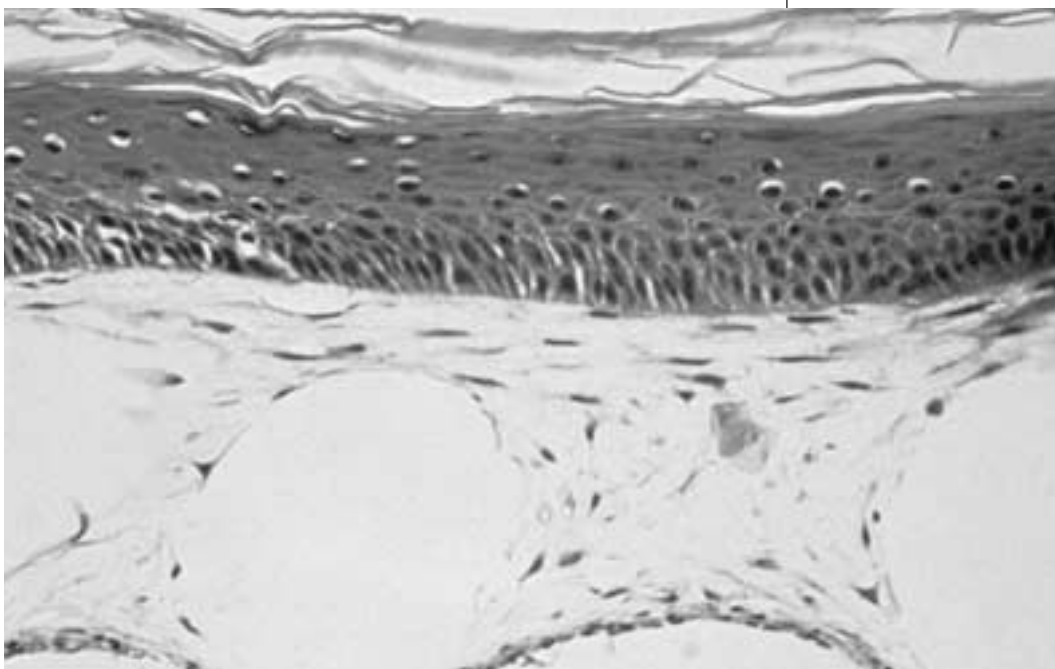
Isoleret hud fra mennesker kan yderligere anvendes til studier af hudabsorption, og denne in vitro model vurderes som velegnet til forudsigelse af hudabsorption hos mennesker (ECETOC, 1993). Den isolerede hud placeres i diffusionsceller, og teststoffet påføres det øverste hornlag. Hudens underside bades i en receptorvæske, der ikke må ændre hudens gennemtrængelighed og skal have tilstrækkelig opløselighed for teststoffet. Ved anvendelse af fysiologiske receptorvæsker kan huden holdes levende under eksperimentet. Ingen dyremodel er et ideelt alternativ, men isoleret hud fra svin har en høj grad af strukturel lighed med menneskelig hud og udviser ofte tilsvarende gennemtrængelighed (ECETOC, 1993).

Tests med rekonstrueret humant væv

Forskningen i behandling af brandsår har ført til udvikling af in vitro modeller med rekonstrueret human hud (se fig. 4.6). Modellernes lighed med normalt væv giver mulighed for en lang række praktiske anvendelser inden for toksikologien og farmakologien (Rasmussen, 1996). Kosmetikindustrien er specielt interesseret i at anvende vævsmodellerne som alternativer til forskellige typer dyreforsøg ved afprøvning af stoffer og produkter, og firmaer som Procter & Gamble og L'Oreal har udviklet deres egne modeller. Forsøg med vævsmodellerne har foreløbig givet gode overensstemmelser med resultater fra dyreforsøg ved testning af mange forskellige typer stoffer og produkter for ætsning, øjen- og hudirritation og fototoksicitet. Vævene anvendes tillige ved undersøgelser af hudens udvikling og sårheling samt i vurdering af anti-ældnings- og solbeskyttelsespræparaters effektivitet.

Rekonstruerede hudmodeller indeholder typisk enten udelukkende keratinocytter (hornceller) eller kombinationer af fibroblaster (bindevævsceller) og keratinocytter, og de repræsenterer derfor et meget forenklet system sammenlignet med in vivo situationen. Den store udfordring ved konstruktion af hudmodellerne har været at frembringe en flerlaget overhud med et hornlag uden hjælp fra en levende organisme. Keratinocytter

Figur 4.6. Tværsnit af en tredimensionel hudmodel opbygget af celler fra forhud. De runde partier i bindevævet er gennemskårne nylontråde.



udsås på filtre eller andre substrater og danner herpå et sammenhængende lag af basalceller. Når cellekulturerne herefter løftes til luft/væske-overfladen, dannes et flerlaget væv, der dækkes af et tyndt hornlag. Den kunstige overhud består af tilsvarende lag af keratinocytter som den naturlige, og en velliggende ultrastruktur er påvist ved lys- og elektronmikroskopi. En levende underhud kan konstrueres på flere måder. Fibroblaster kan fx indstøbes i en gel af kollagenfibre og vævskulturmiedium. Cellerne hæfter sig hurtigt fast til kollagenfibrene, gelen trækkes herved sammen, og mediet udstødes. Efter 2-3 dage i kultur dannes en tæt plade af hvidt, kondenseret væv, der er et egnet grundlag for dyrkning af epidermale celler. Levende bindevæv kan ligeledes fremstilles ved dyrkning af fibroblaster på nylonnet med mikroskopiske masker. Cellerne hæfter sig fast til nettet og udskiller stoffer, der danner bindevævs matriks. Herefter fylder vævet gradvist nettets masker. Herved dannes der et tredimensionelt bindevæv, hvorpå andre celletyper kan dyrkes.

Vævsmodellerne er metabolisk aktive. Forskellige enzymer af cytochrom P450 1A familien er til stede, og hormonet testosteron omsættes på en måde, der nøje svarer til *in vivo* situationen. Vævene kan yderligere bruges til at undersøge effekter af samspillet mellem forskellige celletyper. Forsøg med dyrkning af melanocytter (pigmentdannende celler) i flerlagede keratinocyt-kulturer har vist, at flere karakteristiske træk fra *in vivo* situationen kan genskabes. Melanocytterne etablerer sig i det basale keratinocytlag, og de bliver forgrenede som melanocytter *in vivo*. Pigmentet melanin produceres både i melanocytterne og i de omkringliggende keratinocytter, og efter UV-bestråling øges vævets pigmentering.

En række procedurer med vævsmodeller er udviklet til brug ved testning for fototoksicitet, ætsning samt hud- og øjenirritation. Mulige fototoksiske effekter kan påvises ved måling af cellebeskadigelse i vævene efter UV-A-bestråling. Ved test af 20 stoffer for fototoksiske effekter i hudmodeller er der fundet en 98% overensstemmelse med *in vivo* data. Ved test for ætsning placeres testmaterialerne på modellens stratum corneum i 10 sekunder, og derefter bestemmes graden af cellebeskadigelse. Materialer klassificeres som ætsende, hvis celleoverlevelsen er mindre eller lig med 80% af kontrolniveauet. Metoden kan yderligere bruges til at klassificere stoffer efter FN's kriterier for ætsende effekter. I en undersøgelse af 24 stoffer blev 9 korrekt påvist som ætsende og 15 som ikke-ætsende, og i en valideringsundersøgelse med 25 ætsende og 25 ikke-ætsende stoffer og materialer fandtes overensstemmelser mellem *in vitro* og *in vivo* respons at være 70-92%, og alle materialer kunne testes

(Botham et al., 1995). En hudmodel blev accepteret af US Department of Transportation, TransCanada og Svejts til klassificering og mærkning af forskellige typer ætsende stoffer, men modellen er nu udgået af produktion.

I indledende undersøgelser er der vist relativt gode overensstemmelser mellem cellebeskadigelse i hudmodeller og hudirritation i kaninforsøg, men området kræver yderligere validering.

På øjenirritationsområdet er vævsmodeller blandt de mest lovende in vitro systemer. Celletoksicitet bestemt med en øjenmodel er i meget god overensstemmelse ($r = 0,87$, $n = 36$) med øjenirritationsdata fra kaninforsøg (Osborne et al., 1995). I en undersøgelse med 55 kosmetiske produkter og indholdsstoffer har metoden netop vist tilsvarende gode korrelationer til akutte øjenirritationsdata ($r > 0,85$). Der blev anvendt en forudsigelsesmodel for metoden, der er udviklet på basis af test af 132 stoffer (Brantom et al., 1997). Modellen har yderligere i en indledende undersøgelse givet meget gode overensstemmelser ($r > 0,90$) med data om langtidseffekter af øjenirriterende stoffer (Espersen et al., 1997). Modellen er dog udgået af produktion.

Udviklingstendenser

En væsentlig barriere mod en øget anvendelse af in vitro forsøg er, at de nye tests belyser enkelte toksikologiske mekanismer, mens dyreforsøg omfatter det totale samspil i en beslægtet organisme mellem stoffers indtagelse, optagelse, omdannelse, effekt på centrale og decentrale organ- og celledsystemer og udskillelse via nyrer, tarm, hud eller luftveje. Derfor vil det teoretisk være betydeligt lettere at udvikle in vitro metoder for lokale effekter som fx øjen- og hudirritation, end for påvirkninger af den hele organisme (systemiske effekter). Det skal anføres, at undersøgelser af eksponerede mennesker formentlig også vil blive et stadig mere populært alternativ til dyreforsøg i takt med udvikling af følsomme tests for biomarkører.

Brug af computerprogrammer med sammenhænge mellem kemisk struktur og stoffers biologiske effekter (QSAR) er et område i stor udvikling. Udviklingen er specielt lovende for forudsigelse af kontaktallergi, hvor der er opnået særdeles lovende resultater for en større gruppe af stoffer. Dette kan bidrage til, at indsatsen øges for at dække andre toksikologiske områder. Sammenhænge mellem kemisk struktur og stoffers mutagene effekter er velbelyste, og evnen til at forudsige, om stoffer er

mutagene, er særdeles god, mens evnen til at forudsige, om stoffer ikke er mutagene, stadig er ringe. Fra farmakologien er det velkendt, at selv meget små forandringer i molekylers struktur kan give dramatiske ændringer i deres biologiske effekter, og formentlig vil QSAR-analyser på mange områder også fremover skulle suppleres med biologiske tests for at give sikre forudsigelser af de fleste toksikologiske effekter.

Der i de senere år opnået en del viden om sammenhænge mellem effekter set i forskellige *in vitro* systemer, som måske vil kunne føre til, at testningen kan gøres mere simpel og ensartet. Ved brug af celler, der dyrkes som enkeltlag, er det en tilbagevendende erfaring, at cellernes oprindelse (dyreart og organtype) i mange tilfælde ikke er væsentlig. Samtidig er det i endnu højere grad fundet, at forskellige metoder til at følge celledrab eller celletilvækst giver særdeles ensartede resultater. En begrænsning og standardisering af metoder til målinger af almene giftvirkninger på celler er derfor i høj grad teoretisk mulig. Samtidig er dette meget ønskeligt, da de fleste ressourcer på *in vitro* området hidtil er blevet brugt til opsætning af mange forskellige metoder til påvisning af almen celletoksicitet.

Der er yderligere opnået en relativt stor viden om sammenhænge mellem effekter i *in vitro* systemer og i dyreforsøg, og de fundne resultater peger imod, at celletoksicitet spiller en betydeligt større rolle for mange toksikologiske effekter end tidligere antaget. Specielt inden for områder, hvor lokale effekter undersøges, vil det formentlig kunne blive muligt at opnå en fuldstændig erstatning af dyreforsøg med *in vitro* tests. Erstatning af dyreforsøg med *in vitro* tests af hudabsorption, øjen- og hudirritation samt fototoksicitet kan på nuværende tidspunkt forudsiges at blive aktuelt. Der arbejdes med udvikling af toksikokinetiske modeller til støtte for forudsigelsen af mere systemiske effekter, og dette arbejde vil måske kunne medføre, at *in vitro* metoder, fx for genotoksiske effekter, vil kunne bruges til mere kvantitative forudsigelser i fremtiden.

Påvirkning af væv med lokalirriterende stoffer og UV-stråling kan ændre cellernes enzymaktivitet og vækstmønster samt medføre udskillelse af irritationsmarkører som prostaglandiner, leukotriener og cytokiner. Igennem en længere årrække er målinger af sådanne parametre i traditionelt dyrkede cellekulturer blevet vurderet som mulige alternativer til dyreforsøg ved testning af stoffers lokalirriterende effekter. Generelt har resultater fra sådanne systemer været i god overensstemmelse med *in vivo* øjenirritationsdata for vandopløselige forbindelser. Ved en række større blindundersøgelser af blandede stoffer og materialer har metoderne dog vist sig at være fuldstændig utilstrækkelige.

De foreløbige undersøgelser peger mod, at vævsmodeller er

mere egnede end traditionelle cellekulturer til brug ved screening for lokalirriterende effekter. Den relativt store strukturelle og biokemiske lighed mellem modellerne og de oprindelige væv er væsentlig for accept af systemerne som alternativer eller supplementter til forsøg med dyr. Ved brug af menneskelige væv undgås usikkerheden ved art-til-art sammenligningen desuden. En stor fordel ved brugen af modellerne er endvidere, at vævene doseres ved påsmøring af cremer og direkte påføring af pulvere samt flydende og faste stoffer som i dyreforsøgene. Herved undgås de opløselighedsproblemer, der begrænser anvendelsen af celler i vandigt kulturmedium, og som kan medføre misvisende resultater. Et stort praktisk problem er dog, at konstruktionen af kunstigt menneskeligt væv er patentbeskyttet, og at modellerne er meget kostbare. Flere modeller er endvidere efter en meget betydelig valideringsindsats nu udgået af produktion, da efterspørgslen var lav pga. modellernes høje pris. Der arbejdes dog flere steder med udvikling af nye kommercielle og ikke-kommercielle vævsmodeller til brug ved toksikologiske undersøgelser.

Øget brug af in vitro systemer vil formentlig medføre, at opklaring af biologiske mekanismer bag observerede effekter vil få en større betydning i fremtidige risikovurderinger. Et interessant forhold er, at enkelte biologiske mekanismer ofte relaterer sig til en længere række effekter, der tidligere har været opfattet som fuldstændig forskellige (se tabel 4.2).

Samtidig kompliceres vurderingen af, at de forskellige effekter ofte kan skyldes flere typer af grundlæggende mekanismer, fx at kræft bl.a. kan forårsages af almen celletoksicitet, genotoksiske effekter, påvirkning af celledelingen gennem ændring af mikrotubuli eller af cellernes kommunikation med hinanden. Et større batteri af in vitro tests, der belyser de væsentligste biologiske mekanismer, vil derfor i mange tilfælde være nødvendigt for at

Mekanisme	Effekter
Almen celletoksicitet	Formentlig relateret til de fleste effekter, fx ætsning, lokalirritation, allergi, akut systemisk toksicitet, neurotoksicitet, carcinogenicitet og teratogenicitet.
Genotoksicitet	Carcinogenicitet, teratogenicitet, aldring, atherosclerose.
Celletransformation	Carcinogenicitet, atherosclerose.
Effekter på mikrotubuli	Carcinogenicitet, teratogenicitet og neurotoksicitet.
Ændring af celle til cellekontakt	Tumor promotion, teratogenicitet og neurotoksicitet.
Effekter på eksiterbare membraner	Nedsat muskelfunktion, cardiotoxicitet og neurotoksicitet.

Tabel 4.2. Relationer mellem cellulære effekter og in vivo toksicitet.

kunne forudsige mere komplicerede effekter med en rimelig sikkerhed. In vitro testene har dog formentlig et meget stort, hidtil udforsket, potentiale for at kunne bruges i en samtidig forudsigelse af en lang række forskellige toksikologiske effekter.

Litteratur

- Balls M, Fentem J. Alternatives to Laboratory Animals 1992, 20:368-388.
- Balls M, Botham PA, Bruner LH, Spielmann H. The EC/HO international validation study on alternatives to the Draize eye irritation test. *Toxicology In vitro*. 1995, 9, 871-929.
- Barratt MD. Quantitative structure-activity relationships for skin irritation and corrosivity of neutral and electrophilic organics. *Toxicology In vitro*, 1996, 10, 247-256.
- Barratt MD, Basketter DA, Chamberlain M, Payne MP, Admans GD et al. Development of an expert system rulebase for identifying contact allergens. *Toxicology In vitro*, 1994, 8, 837-839.
- Botham PA, Chamberlain M, Barratt MD, Curren RD, Esdaile DJ et al. A prevalidation study on In vitro skin corrosivity testing. *Alternatives to Laboratory Animals*. 1995, 23, 219-255.
- Brantom PG, Bruner LH, Chamberlain M, de Silva O, Dupuis J et al. A summary report of the COLIPA international validation study on alternatives to the Draize rabbit eye irritation test. *Toxicology In vitro*. In press.
- Bruner L H, Carr GJ, Chamberlain M, Curren RD. Validation of alternative methods for toxicity testing. *Toxicology In vitro*, 1996, 10, 479-501.
- Clemedson C, McFarlane-Abdulla E, Andersson M, Barile F, Calleja M et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part II. In vitro results from 68 toxicity assays used to test the first 30 reference chemicals and a comparative cytotoxicity analysis. *Alternatives to Laboratory Animals*. 1996, 24, 273-310.
- ECETOC. Skin irritation. Monograph no. 15. Brussels, 1990.
- ECETOC. Percutaneous absorption. Monograph no. 20. Brussels, 1993.
- Edelfors S, Ravn-Jonsen A. Toksikokinetik. Giftstoffers optagelse, fordeling, omsætning og udskillelse fra organismen. I: Schou JS (red.): Toksikologi. Nyt Nordisk Forlag Arnold Busck, København, 1984.
- Espersen RJ, Olsen P, Nicolaisen G, Jensen BL, Rasmussen ES. Assessment of recovery from ocular irritancy using a human tissue equivalent model. *Toxicology In vitro*, 1997, 11, 81-88.

- Osborne R, Perkins MA, Roberts DA. Development and intralaboratory evaluation of an In vitro human cell-based test to aid ocular irritancy assessments. *Fundamental and Applied Toxicology*. 1995, 28, 139-153.
- Rasmussen ES. Prospects for use of In vitro methods for assessment of human safety. *Levnedsmiddelstyrelsen*, 1995.
- Rasmussen ES. Brug af rekonstruerede humane vævsmodeller i toksikologiske og farmakologiske undersøgelser. *Dansk Veterinærtidsskrift*, 1/11, 1996, 943-948.

KAPITEL 5

Analytisk epidemiologi

Poul Suadicani

Analytisk epidemiologi

Epidemiologi er læren om sygdommes og sygdomsdeterminanters udbredelse i populationen og anvendelse af viden herom til kontrol af disse. Ordet kommer fra græsk og består af tre led, epi = hos eller ved, demos = folk eller folket, og logos = lære. Ordet betyder altså bogstaveligt: Læren om hvad der er hos folket, i betydningen, hvad der karakteriserer folket. Toksikologisk epidemiologi kunne man derfor definere som læren om toksin-fremkaldte sygdomme og toksiske sygdomsdeterminanters udbredelse i populationen og anvendelse af viden herom til kontrol af disse. Sygdomsdeterminanter kaldes i epidemiologisk terminologi oftest for risikofaktorer.

Man kunne tænke sig, at en given sygdomshistorie gav anledning til mistanke om tilstedeværelsen af en toksisk faktor i arbejdsmiljøet. Men selvom den toksiske faktor påvises, findes den da i relevante doser, i hvilken sammenhæng forekommer den, og hvor stor er dens relative betydning som sygdomsfremkaldende faktor? For at analysere og præsentere sammenhængen mellem en given sygdom og eksponering for potentielle risikofaktorer, eller sammenhængen mellem potentielle risikofaktorer og sygdom - en vigtig skelnen - er det nødvendigt at have en metodologisk platform og et anvendeligt sprog, nemlig epidemiologisk metode og epidemiologisk terminologi. I det følgende gennemgås en række basale metodologiske og terminologiske begreber inden for epidemiologien: risikomål, risikofaktorer, relativ risiko, effektmodifikation, konfoundere, bias, studiedesign, og endelig fortolkning af en undersøgelses resultater. Er de fundne sammenhænge simple associationer, eller taler undersøgelsens resultater for en årsagsbestemt, såkaldt kausal (af latin causa = årsag, grund, anledning) sammenhæng mellem den eller de undersøgte eksponeringer og udfaldet - sygdom eller død?

Som eksempel på metodologiske overvejelser og fortolkning af en undersøgelses resultater vil en artikel fra forfatterens egne undersøgelser blive gennemgået. Denne undersøgelse angår sammenhængen mellem erhvervsmæssig livstidseksponering for organiske opløsningsmidler og risikoen for udvikling af diffus

hjerneskade karakteriseret ved svækket hukommelse og nedsat koncentrationsevne.

Basale begreber

Begreberne prævalens og incidens er de hyppigst anvendte mål for sygdomsforekomst.

Prævalens

Ved prævalens (substantiv afledt af det latinske verbum *prævalere* = at være mægtig, have stor indflydelse) forstås antallet af tilfælde af en given sygdom eller anden tilstand i en given population på et givet tidspunkt. Når man ønsker at sammenholde sygdomsforekomsten hos individer eksponeret for en potentiel risikofaktor med sygdomsforekomsten hos ueksponerede, er den relative og ikke den absolutte forekomst af en sygdom eller tilstand oftest af størst interesse. Man præsenterer derfor typisk den såkaldte prævalensproportion, dvs antallet af syge divideret med det totale antal af individer i populationen.

Prævalensproportionen præsenteres enten direkte som en brøk, eller - hyppigst - omregnet til en procentuel værdi. Når prævalensen af en sygdom præsenteres i et videnskabeligt arbejde, betyder dette oftest prævalens i procent. En hyppigt anvendt variant af begrebet prævalens er punktprævalens, som dækker antallet af personer med en given sygdomsforekomst eller tilstand på et givet tidspunkt. På dansk er punktprævalensbegrebet dermed nærmest synonymt med prævalensbegrebets overordnede definition, men udtrykket bruges ofte netop for at understrege, at der er tale om en prævalens her og nu - i modsætning til, hvad der gælder for udtrykket periodeprævalens.

Periodeprævalens er et begreb, der omfatter antallet af personer, der inden for et nærmere specificeret tidsrum har haft den undersøgte sygdom eller tilstand. En ofte anvendt periodeprævalens er etårsprævalensen. Dette sygdomsmål bruges typisk i tværsnitsundersøgelser, hvor man ønsker at klarlægge sammenhængen mellem aktuelle eksponeringer og aktuel eller nylig sygdomshistorie. Selvom man derved bringer eksponeringen og udfaldet tæt på hinanden, er designet dog langtfra ideelt, hvis man ønsker at afdække årsagssammenhænge. Dette skal senere kort diskuteres i en gennemgang af fordele og ulemper ved forskellige studiedesigns. De samme overvejelser gør sig gældende mht en sidste variant af prævalensbegrebet, som skal nævnes her, livstidsprævalensen. Livstidsprævalensen defineres som det

totale antal personer, der vides at have haft en given sygdom eller tilstand på et eller andet tidspunkt i deres liv. Selvom sygdomsprævalens ikke er det bedste udfaldsmål til at vurdere sammenhængen mellem en mulig risikofaktor og sygdom, gælder det imidlertid for både punkt-, periode- og livstidsprævalens, at viden herom spiller en stor rolle i sygdomsovervågning regionalt, nationalt og internationalt.

Incidens

Ved begrebet incidens (substantiv afledt af det latinske verbum incidere, der kan have flere betydninger; i forbindelse med både tid og begivenheder er incidere = indtræffe) forstås antallet af nytilkomne sygdomstilfælde eller dødsfald i en specificeret population inden for en given periode. Ofte bruges udtrykket incidens til at beskrive incidensraten. Incidensraten afspejler hastigheden, hvormed nye tilfælde af sygdom eller død indtræffer i en population. For at bidrage til forvirringen i epidemiologisk terminologi anvendes udtrykket rate også ofte i forbindelse med prævalensbegrebet, men her synonymt med ordet ratio eller prævalensproportion. Det må anses for mest hensigtsmæssigt at forbeholde udtrykket rate til incidensstudier, idet en rate beskriver hastighed og tilvækst, begreber som oftest er irrelevante i prævalensstudier. Incidensraten præsenteres i videnskabelige arbejder på to forskellige måder, der har forskellige styrker og svagheder. Det engelske udtryk incidence rate (synonymt med incidence density = incidenstæthed) defineres som antallet af nye sygdomstilfælde eller dødsfald divideret med det tidsrum (typisk person-år), som de i populationen indgående individer tilsammen har risiko for at blive syge. Den kumulative incidensrate (engelsk: cumulative incidence rate) defineres som antallet af individer i populationen, der bliver syge eller dør inden for et givet tidsrum divideret med det totale antal personer ved periodens begyndelse. Fordelen ved at anvende det første begreb er, at der i højere grad tages hensyn til konkurrerende sygdoms- eller dødsårsager og dermed også "tilfældighedernes spil". En storryger, der bliver kørt over af et tog, løber en mindre risiko for at blive ramt af lungecancer end rygeren, som undgår denne skæbne. Ved i dataanalyserne at inddrage varigheden af den observationsperiode, hvormed det enkelte individ bidrager i en forløbsundersøgelse, tager man i nogen grad højde for risikoen for at fejlestimere risikofaktorens relative betydning for den sygdom, man undersøger. Ved præsentationen af data baseret på sådanne analyser kan det imidlertid være vanskeligt at forholde sig til, at et vist antal personer er døde eller er blevet ramt af sygdom i forhold til et eller andet antal observationsår. Et mere simpelt og oftest fuldt anvendeligt mål er det kumulative inci-

denstal, hvor det intuitivt er ganske enkelt at forstå, at fx 15% af dem, der var rygere, døde af iskæmisk hjertesygdom, mens tallet blandt ikke-rygere kun var 7%. Da rygning kan medføre død af en lang række årsager, er det dog lige så let at forstå, at risikoen for at underestimere rygningens betydning i en kumulativ incidensanalyse er overhængende. Hvad med dem, der døde af lungecancer? Havde de fået et myokardieinfarkt året efter? I de statistiske analyser bør man derfor tage hensyn til tidspunktet for sygdom eller død, især i længerevarende forløbsundersøgelser. Det er en god idé at afprøve, om der er forskel på resultaterne af analyser, der tager hensyn til tidspunktet for udfaldet, time-to-event, og analyser, der ikke gør. Hvis der er en udtalt overensstemmelse mellem analyseresultaterne, er det formentlig mest hensigtsmæssigt, læs: pædagogisk, at præsentere den kumulative incidens. Er der derimod en klar uoverensstemmelse mellem resultaterne, må man identificere årsagerne til dette og evt overveje, om det anvendte undersøgelsesdesign overhovedet giver mening.

Risikofaktorer og effektmodifikation

Vi har nu to overordnede begreber for udfald, prævalens og incidens. Men hvad er årsagen til udfaldet, sygdom eller død, med andre ord, hvilke risikofaktorer eller sygdomsdeterminanter er væsentlige eller medvirkende årsager til udfaldet? Selvom begrebet risikofaktor umiddelbart forekommer enkelt, har termen været defineret med flere forskellige betydninger: som en faktor eller attribut, dvs et karakteristikum, der er associeret med et givet udfald, men ikke nødvendigvis er en årsagsrelateret faktor. Har man sygdommen, har man også faktoren, men ikke som et resultat af faktorens tilstedeværelse. I denne definition anses en risikofaktor altså for at være en markør for risiko. En anden definition angiver risikofaktoren som et karakteristikum eller en eksponering, der øger risikoen for en given sygdom. Her anses faktoren for en egentlig determinant, en faktor af betydning for sygdommen. En tredje definition er gået skridtet videre og har udvidet ovenstående i en mere optimistisk retning set i lyset af definitionen af epidemiologi i indledningen af dette kapitel, hvor muligheden for at opnå kontrol med risikofaktorer udgør et vigtigt element. Risikofaktoren betragtes ikke alene som en determinant, altså en egentlig årsagsfaktor, men som en determinant, hvis betydning kan modificeres - kontrolleres - ved intervention.

Relativ risiko

To begreber anvendes oftest til at beskrive den relative risiko, odds ratio (OR) og rate ratio (RR) (eller risiko ratio). Ved odds forstås sandsynligheden for forekomst af en sygdom eller anden tilstand divideret med sandsynligheden for ikke-forekomst. Odds ratioen er derfor odds for en gruppe divideret med odds for en anden gruppe. Odds ratioen kaldes også relativ odds eller krydsproduktratioen og anvendes typisk i case-referent undersøgelser. Rate ratioen defineres som ratioen mellem to rater. I epidemiologisk forskning bruges udtrykket i den præcise betydning: forholdet mellem risikorate i den eksponerede gruppe divideret med risikorate i den ueksponerede gruppe og anvendes typisk i forløbsundersøgelsen. Ved sjældent forekommende sygdomme eller dødsårsager, der forekommer eller indtræffer i højst nogle få procent af populationen, er odds ratioen tilnærmelsesvis lig med risiko ratioen mellem risikofaktoreksponerede og ueksponerede. Med stigende sygdomshyppighed eller dødelighed i en population bliver forskellen mellem odds ratio og rate ratio stadig mere udtalt, og man må gøre sig klart, hvilken information man ønsker at bibringe læseren, når man præsenterer odds eller rate ratioen. Basalt udtrykker de to begreber således det samme, men de beregnes forskelligt og anvendes også i forskellige situationer. Hvis eksempelvis OR eller RR i en case-kontrol undersøgelse er 2,0, betyder det, populært sagt, at sandsynligheden/risikoen for sygdommen er dobbelt så stor blandt de eksponerede som blandt kontrollerne. Endelig skal et associationsmål nævnes, der typisk bruges i tværsnitsundersøgelsen, prævalensproportions ratioen (PPR). Ved PPR forstås hyppigheden af forekomst af en given sygdom eller tilstand hos eksponerede i forhold til hyppigheden blandt ikke-eksponerede.

Effektmodifikation

Effektmodifikation er det fænomen, at en risikofaktors effekt, dvs relative styrke af sammenhæng med udfaldet, modificeres af en anden faktor - effektmodifikatoren. I praksis betyder dette, at odds ratioen eller rate ratioens størrelse er betinget af en tredje faktor. Det ses fx ofte, at den relative risiko ved rygning i relation til udvikling af myokardieinfarkt er større blandt unge end blandt ældre mænd. Variablen alder er her en effektmodifikator. Hvis man i multivariable dataanalyser anvender regressionsanalyser og er klar over muligheden for effektmodifikation af den undersøgte risikofaktor, kan man undersøge, om en sådan rent faktisk forekommer, ved i analyserne, ud over de enkelte variable, hvis prædiktive betydning for sygdomsrisiko man ønsker at undersøge, også at inddrage et interaktionsled, der matematisk er produktet af de enkelte variables værdier. Det, man derved

tester i en multivariabel statistisk model, er, om samspillet mellem to (eller flere) variable bidrager mere end de enkelte selvstændige variable til modellens evne til at udsige noget om risikoen for udfaldet på basis af et sæt af såkaldt uafhængige variable. Fundet af et signifikant interaktionsled vil ofte motivere yderligere stratificerede analyser, hvor den relative betydning af risikofaktoren klarlægges i forskellige undergrupper.

Konfoundere

I epidemiologisk forskning søger man så vidt muligt at tage højde for indflydelse fra potentielle konfoundere (substantiv af latinsk *confundere* = blande sammen, forvirre). I overensstemmelse med ordets oprindelse er potentielle konfoundere altså muligt forvirrende faktorer, men et sådant udtryk har ikke vundet genklang i dansk epidemiologisk forskning, og i lighed med de fleste andre begreber inden for epidemiologien er danske epidemiologiske termer meget ofte fordanskninger af engelske udtryk, der igen har deres sproglige rod i latin eller græsk. En konfounder er defineret som en faktor, hvis tilstedeværelse potentielt kan influere på både styrken af sammenhæng mellem en undersøgt risikofaktor og udfaldet, og - evt - være den egentlige eller mere væsentlige risikofaktor. Et eksempel på en udbredt konfounder, som store epidemiologiske studier kun i en vis, ofte ringe grad, har taget højde for, er socialgruppetilhørsforhold. En lang række sygdomme forekommer med større hyppighed i de lavere sociale lag. Årsagerne kan være mange, bl.a. sociale forskelle i livsstil. Eksempelvis har talrige undersøgelser påvist, at der ryges væsentligt mere i lavere sociale lag, og at væsentligt færre rygere her er tilbøjelige til at lægge tobakken på hylden. Selv blandt ikke-rygere og tidligere rygere i de lavere socialgrupper er der imidlertid en meget større risiko for at rammes af hjerte-karsygdom sammenlignet med risikoen blandt individer i højere socialklasser med de samme rygekarakteristika. I en blandet population vil rygningens overordnede betydning som risikofaktor for hjerte-karsygdom blive overestimeret, hvis man undlader at tage højde for dette, idet rygning også i nogen grad vil komme til at fungere som en markør for lav socialklasse. Ud over at være en væsentlig potentiel konfounder er socialgruppe (eller socialklasse) også en potentielt vigtig effektmodifikator, idet den relative betydning af rygning er betydeligt større blandt de højere sociale lag sammenlignet med de lave.

Konfoundere defineres meget forskelligt i forskellige lærebøger, men essensen, uanset videnskabsteoretiske overvejelser i øvrigt,

er, at man i sine analyser sikrer sig, at risikofaktorer, som kan have indflydelse på sygdomsudfaldet ud over den, der fokuseres på i undersøgelsen, fordeles sig ensartet blandt individer eksponeret for den undersøgte risikofaktor og individer uden denne eksponering. Ofte vil man allerede i planlægningsfasen have taget højde for visse vigtige potentielle konfoundere, typisk alder, køn og rygevaner. Hvis fordelingen af andre faktorer, som man i sine analyser identificerer som signifikant associerede med det undersøgte udfald, har en heterogen association til den eller de potentielle risikofaktorer, må man i analysefasen tage højde for dette ved at anvende multivariable (lejlighedsvis benævnt multivariate) eller stratificerede analyser, hvis dette er muligt.

Bias

Vi står nu med værktøj til at beskrive udfaldet, prævalens af sygdom eller incidens af sygdom eller død, vi har kortlagt risikofaktorerne, og vi tager hensyn til faktorer, som konkurrerer med risikofaktorerne, eventuel effektmodifikation og konfoundere. Vi kan altså gå i gang med analyserne, fortolkningen og præsentationen af data. Eller kan vi overhovedet det, før vi har overvejet og taget højde for kilder til bias?

Begrebet bias er uhyre væsentligt i analytisk epidemiologi og er endnu et låneord fra engelsk, som dårligt kan oversættes til et enkelt ord på dansk. I Gyldendals engelsk-danske ordbog oversættes ordet som substantiv til: skrå retning eller skævhed, og figurativt til: hang eller tilbøjelighed eller ligefrem fordom eller forudindtagethed; tilsvarende defineres det adjektiviserede verbum bias(s)ed som forudindtaget eller ensidig. Denne hildethed lægger man ikke i begrebet i epidemiologisk terminologi, men resultatet af en underliggende skævhed eller tilbøjelighed i en videnskabelig undersøgelse bliver det samme, som hvis undersøgelsen var bevidst hildet, nemlig en systematisk kilde til fejl. Oftest oversætter man på dansk netop udtrykket bias til systematisk fejl. En bias kan virke på et hvilket som helst tidspunkt i en undersøgelses faser - fra den indledende planlægning til den endelige analyse, fortolkning og præsentation af data. Mange former for bias er blevet beskrevet. I det følgende fokuseres på to af de vigtigste, selektions- og informationsbias.

Selektionsbias

Selektionsbias er en fejkilde, der skyldes forskelle i karakteristika mellem dem, der bliver udvalgt til en given undersøgelse, og dem, der ikke gør. Man kunne tænke sig, at man inviterede til en undersøgelse, hvis formål det var at klarlægge sammenhæn-

gen mellem livsstil og claudicatio intermittens (haltende gang forårsaget af åreforkalkning i underbenene). Den kliniske undersøgelse angives at skulle finde sted på 5. sal i en bygning uden elevator. Der skal ikke megen fantasi til at forestille sig, at gangbesværede foretrækker at blive hjemme i højere grad end folk uden gangproblemer, og risikofaktorerne, in casu især rygning, vil blive underestimeret, evt slet ikke identificeret. Man har dermed uforvarende fået introduceret en såkaldt type 2 fejl i sin undersøgelse: et fejlagtigt undersøgelsesresultat forårsaget af bias i forbindelse med selektion af deltagere, en såkaldt sampling- eller stikprøvebias. Resultatet ville med andre ord have været et andet, hvis hele baggrundspopulationen, hvorfra stikprøven blev trukket, havde deltaget i undersøgelsen. To varianter af stikprøvebias optræder, type 1 og type 2 fejl, også kaldet alfa- eller beta-fejl. Udgangspunktet i analytiske undersøgelser er testing af hypoteser. Af statistiske årsager anvender man en nulhypotese som arbejdshypotese. I arbejdshypotesen postuleres det, at der ingen sammenhæng er mellem den undersøgte risikofaktor og udfaldet - eller omvendt: mellem udfaldet og den undersøgte risikofaktor. Denne sammenhæng testes i analyserne med et eller andet på forhånd fastsat sandsynlighedsniveau eller statistisk forkastningsniveau. Hvis nulhypotesen forkastes, selvom den egentlig er sand, opstår en type 1 fejl. Man må acceptere den såkaldte alternativhypotese til nulhypotesen og finder dermed sammenhænge, der i realiteten ikke eksisterer. Hvis nulhypotesen accepteres, selvom den er usand, har man en type 2 fejl. I den situation undlader man at opdage sammenhænge, som i realiteten eksisterer. Uanset hvilken af de to typer af fejl der er tale om, bliver konklusionen eller konklusionerne fejlagtige, og epidemiologiens endemål, kontrol med risikofaktorer ved intervention efter identifikation og kortlægning af disse, er dermed umuliggjort. Dette gælder, uanset hvor præcise informationer man i øvrigt har om de mennesker, der rent faktisk deltager i undersøgelsen.

Hypptigt anvendte og hyppigt relevante begreber er healthy worker effect eller healthy worker selection bias. En healthy worker effect er et fænomen, hvor en population af ansatte arbejdere udviser en lavere dødelighed eller sygelighed sammenlignet med baggrundspopulationen. Årsagen er, at syge og handicappede, for ikke at nævne døde, ikke længere er i stand til at udføre deres arbejde, og at arbejdspladsen derfor består af positivt helbredsselektede. Tager man ikke den mulige healthy worker effect i ed, er risikoen indlysende den, at jo værre de helbredsødelæggende risikofaktorer, der har forårsaget selektionen, er, desto stærkere en selektion vil der forekomme i arbejdsmiljøet. Muligheden for at observere en stadig lavere relativ

dødelighed og sygelighed i den resterende, helbredsmæssigt stærkt selekterede gruppe, sammenlignet med baggrunds-populationen, vil være til stede. Manglende opmærksomhed på selektionsproblematikken kunne medføre, at man drog den komplet fejlagtige konklusion, at disse mennesker arbejdede og levede under gunstigere forhold end andre og dermed var både misundelses- og efterlignelsesværdige.

Informationsbias

Informationsbias kan defineres som en fejlkilde, der vedrører enten eksponeringsdata eller udfaldsdata. To primære varianter af informationsbias, relateret til den information, der er indhentet fra undersøgelsesdeltagere, er rapporterings- og recallbias. Rapporteringsbias defineres som selektiv undertrykkelse af eller manglende oplysning om forhold, der kan have betydning for en undersøgelses resultater. Dette kunne fx være viden om HIV-positivitet eller andre fortrinsvis seksuelt overførte sygdomme. Også tobaks- og alkoholbrug underrapporteres ofte, og for i det mindste i nogen udstrækning at kontrollere dette anvender man lejlighedsvis biologiske markører, typisk fra blod- eller urinprøver, som et redskab til vurdering af graden af overensstemmelse mellem det rapporterede og de faktiske forhold. Ikke overraskende har man observeret nogle af de højeste misklassifikationsrater i rygeophørsstudier, hvor en del personer, der rapporterer, at de ikke ryger, har værdier for fx serum cotinin, en primær metabolit af nikotin, som ikke alene klart overstiger de værdier, man finder hos ikke-rygere eller personer, der ryger lejlighedsvis, men som er på niveau med aktive rygeres serumkoncentration. Recallbias er et begreb, der er nært beslægtet med rapporteringsbias. Recallbias beskriver en systematisk fejlkilde forårsaget af forskelle i præcisionen eller fuldstændigheden af rapportering af tidligere sygdomstilfælde eller andre hændelser associeret med livsstil eller livsomstændigheder. Rapportering af en given sygdom i familien vil eksempelvis være mere præcis - læs: udtømmende - blandt folk, der selv har den pågældende sygdom, dette uanset om sygdommen per se overhovedet er arvelig. En undersøgelse af en sygdoms evt arvelige komponent baseret på en sammenholden af rapporteret egensygdom med rapportering af den samme sygdom i familien, kunne derfor føre til den fejlagtige konklusion, at sygdommen netop var arvelig. Informationsbias kan ligeledes være relateret til udfaldsvariablen. Dette gælder for såvel selvrapporterede symptomer og sygdomme som for data fra registre. Disse kan være mere eller mindre komplette pga manglende indrapportering, men især diagnoseusikkerhed er et problem. Bl.a. bliver kun de færreste dødsårsager verificeret ved sektion, et problem i sygdomsover-

vågningen og forskningen, der har været stigende i det seneste tiår. Derved kan der yderligere opstå en "bias i biasen", nemlig bias i autopsier, hvor den systematiske fejl opstår som et resultat af, at de, der underkastes autopsi, ikke udgør et "random sample", altså en tilfældig stikprøve, af alle dødsfald i den undersøgte population. Manglende præcision mht både eksponerings- og udfaldsvariablen vil tendere mod at svække styrken af sammenhæng mellem en risikofaktor og sygdom eller død - og måske få den til helt at forsvinde.

Andre former for bias

Potentiel bias er altså risikoen for at introducere en eller flere systematiske fejlkilder i en undersøgelses forløb. Nogle forfattere definerer og klassificerer bias i tre kategorier: selektionsbias, informationsbias og konfoundere. Det kan dog være vanskeligt at placere alle relevante former for bias i disse kategorier, og andre forfattere og forskere underlader denne stringente kategorisering. Allerede i 1979 beskrev Sackett mere end halvtreds forskellige former for kilder til bias i analytisk forskning, og begrebet tildeles også god plads i A Dictionary of Epidemiology. Ud over de allerede nævnte kilder til bias må også målebias anses for væsentlig og nævnes lejlighedsvis sideordnet med selektions- og informationsbias. Måling af eksponering eller udfald, hvad enten dette sker vha et spørgeskema eller med mere objektive kliniske eller laboratoriebaserede undersøgelser, er ofte upræcis, hvilket medfører misklassifikation. Eksempelvis er det også velkendt, at interobservatorvariation i mange sammenhænge er stor, ikke mindst hvis der er tale om målinger med en høj grad af klinisk skøn og derved subjektivitet. Mens én undersøger diagnosticerer en deltager som syg, vil en anden måske klassificere individet som rask. Målebias kunne også være en fejl direkte knyttet til et måleinstrument. Hvis man systematisk målte undersøgelsesdeltagere med et eksempelvis 10 mm Hg lavere systolisk blodtryk end den faktiske værdi og associerede disse værdier til senere udvikling af iskæmisk hjertesygdom, ville man konkludere, at risikoen for hjertesygdom var høj allerede ved forholdsvis lave blodtryksværdier. Hvis man tog konsekvensen af et sådant resultat og overførte resultaterne til baggrundspopulationen, ville en alt for stor gruppe blive sygeliggjort og evt behandlet - unødvendigt og fejlagtigt.

Allerede på det tidspunkt, hvor man skal til at overveje, hvilket studiedesign man ønsker at anvende for at teste en given hypotese, må man gøre sig klart, hvilke former for bias der kunne tænkes at influere på muligheden for at nå en overbevisende konklusion. Uanset hvilket design man ender med at vælge, vil der restere kilder til fejl, hvis potentielle indflydelse

må diskuteres, når resultaterne af undersøgelsen fremlægges. Hvordan man kan forsøge at minimere indflydelsen af bias, er beskrevet af Kleinbaum, og senere i dette kapitel præsenteres en række hjælpespørgsmål, som man kan stille sig selv for at teste, i hvilken udstrækning man har taget hensyn til og identificeret nogle af de vigtigste biasmuligheder. Disse spørgsmåls relevans har relation til det valgte studiedesign og vil derfor blive præsenteret efter den følgende gennemgang af studiedesigns.

Sensitivitet og specificitet

Begreberne sensitivitet og specificitet har nær relation til informationsbias, idet de fortæller noget om informationens præcision. Begreberne anvendes oftest i relation til en screeningstest for sygdom, men kan også benyttes fx til at beskrive præcisionen af undersøgelsesdeltageres egenrapportering af fx rygevaner. I forbindelse med en screeningstest for sygdom defineres sensitivitet som den proportion af sandt syge i den screenede population, der identificeres som syge af testen; med andre ord er sensitivitet dermed et mål for sandsynligheden for at diagnosticere et sygdomstilfælde korrekt, eller sandsynligheden for, at alle tilfælde identificeres. Begrebet er synonymt med "proportionen af sandt positive".

Specificitet er defineret som den proportion af sandt ikke-syge, der også identificeres som sådanne af testen. Dermed er specificitet et mål for sandsynligheden for en korrekt identifikation af ikke-syge. Begrebet er synonymt med "proportionen af sandt negative". Erfaringsmæssigt er udtrykkene sensitivitet og specificitet hukommelsesteknisk ikke særligt hensigtsmæssige, og begreberne blandes tit sammen. Lettere at huske er begrebet prædiktiv værdi, som er bestemt af en tests sensitivitet og specificitet. Ved den prædiktive værdi af en positiv test forstås sandsynligheden for, at en person rent faktisk også har fx sygdommen, når testen er positiv, mens den prædiktive værdi af en negativ test er sandsynligheden for, at personen ikke har sygdommen, når testen er negativ. I praksis er det måske oftest lettest for både forfatter og læser, at forfatteren bruger lidt tid og plads på at beskrive, hvad der rent faktisk er foregået.

Studiedesign

Ved valg af studiedesign er der en lang række overvejelser, man må gøre sig klart. Først og fremmest, hvad er designets formål? Som nævnt ovenfor gælder det om at nå frem til resultater, der har en høj grad af troværdighed, man taler om undersøgelsers validitet og reliabilitet. Ved en undersøgelses validitet

mener man den udstrækning, i hvilken undersøgelsen er i stand til at besvare den undersøgte hypotese. Ved reliabilitet mener man undersøgelsens reproducerbarhed. Hvor stor en variation i resultaterne ville der være, hvis man gentog hele øvelsen med den samme metode? Jo mindre variation, desto større reliabilitet. De økonomiske og tidsmæssige omkostninger i analytisk-epidemiologiske undersøgelser kan være store, og man må derfor gøre sig klart, hvordan man får den bedst mulige cost-benefit ratio; en undersøgelses effektivitet spiller med andre ord også en vigtig rolle. Studiedesigns i epidemiologisk forskning kan inddeles i tre hovedgrupper: tværsnitsundersøgelsen, case-referentundersøgelsen og kohorteundersøgelsen.

Tværsnitsundersøgelsen

Tværsnitsundersøgelsen er et design, hvor man undersøger sammenhængen mellem sygdomme eller andre tilstande og andre variable af interesse, som de forekommer i en defineret population på et givet tidspunkt. Tværsnitsundersøgelsen kaldes også prævalensundersøgelsen. Sygdomstilstande og andre forhold undersøges hos de enkelte individer i populationen.

Associationen mellem sygdom og andre variable kan undersøges på to måder. Enten med udgangspunkt i en potentiel risikofaktor eller med udgangspunkt i en given sygdom: Hvor stor er fx prævalensproportionen af tidligere myokardieinfarkt hos individer med forhøjet blodtryk og hos andre?, og med udgangspunkt i sygdom: Hvor stor er fx prævalensproportionen af rygere hos folk med og uden tidligere diagnosticeret myokardieinfarkt? Som tidligere nævnt er det sjældent hverken muligt eller relevant at se på den tidsmæssige sammenhæng mellem en risikofaktor og et udfald i en tværsnitsundersøgelse. En variant inden for tværsnitsundersøgelser, som inkluderer tidsaspektet, er dog den såkaldt historisk prospektive undersøgelse, som tager udgangspunkt i undersøgelsesdeltagernes livstidseksponering for den undersøgte risikofaktor og nuværende og tidligere helbredsforhold. Derved kan man klarlægge, om eksponeringen kom før sygdommen. Risikoen for både selektions- og informationsbias er dog indlysende i den type af undersøgelser.

Tværsnitsundersøgelsens styrke sammenlignet med case-referent undersøgelsen er, at man direkte kan beregne proportionen af en given sygdom i en udvalgt population, og evt - hvis dette er relevant - sætte den i relation til et kendt referencemateriale. Desuden kan tværsnitsundersøgelsen være hypotesegenererende og danne basis for en egentlig prospektiv undersøgelse.

Case-referent undersøgelsen

Case-referent undersøgelsen har mange navne og betegnes også

ofte som en case-kontrol undersøgelse eller simpelthen som en retrospektiv - tilbageskuende - undersøgelse. En del andre betegnelser har været anvendt, men bruges sjældent. En case-referent undersøgelse tager udgangspunkt i individer, der har den sygdom, man er interesseret i at undersøge (cases), og en brugbar kontrolgruppe (referenter), der ikke har denne sygdom. Princippet ved undersøgelsen er, at den relative forekomst af potentielle risikofaktorer hos syge sammenlignes med forekomsten hos raske. Typisk vil man definere cases inden for en undersøgelsespopulation, altså i tværsnitsundersøgelsen, eller med udgangspunkt i fx hospitalspatienter. En vanskelighed ved at tage udgangspunkt i casen er valg af en passende kontrolgruppe. Ved en passende konfounderkontrol kan man dog tage højde for dette, og dette problem er formentlig ikke mindre i kohorteundersøgelsen. En variant af case-referent undersøgelsen, hvor man har udtrukket cases inden for tværsnitsundersøgelsen, er den nestede case-referent undersøgelse, hvor man til et givet antal cases fra den øvrige population udtrækker en eller flere, ofte matchede, kontroller. Det engelske verbum nest betyder ud over at bygge rede også "anbringe" (inden i hinanden). En nested case-referent undersøgelse er netop en case-referent undersøgelse "anbragt" inden i en anden undersøgelse. Den største fordel ved at udtrække en subpopulation fra hele populationen er, at det er ressourcebesparende både tidsmæssigt og økonomisk, og at designet kan være lige så effektivt, som hvis man betragtede alle ikke-cases som referenter.

Kohorteundersøgelsen

Kohorteundersøgelsen (af latin, cohort = militær enhed i det gamle Rom der udgjorde en tiendedel af en legion svarende til 300 til 600 mænd) eller den prospektive - fremadskuende - undersøgelse, er et i mange henseender mere ideelt studiedesign end både tværsnitsundersøgelsen og case-referent undersøgelsen. Andre hyppigt anvendte synonyme betegnelser er follow-up study (på dansk forløbsundersøgelse), incidence study (incidensundersøgelse) og longitudinal study (logitudinel undersøgelse). I modsætning til tværsnitsundersøgelsen og case-referent undersøgelsen tager kohorteundersøgelsen udgangspunkt, ikke i sygdommen, men i eksponeringen. Som en mere præcis analogi til en case-referent undersøgelse kunne man således med en vis ret kalde den prospektive undersøgelse for en exposure-referent undersøgelse, et udtryk der dog ikke anvendes endnu. Vigtige potentielle problemer både ved case-referent undersøgelsen og tværsnitsundersøgelsen er, at det kan være svært, eller måske umuligt, at estimere både den absolutte risiko associeret med en undersøgt risikofaktor og den såkaldte tillægsrisiko (attributable risk).

Tillægsrisiko og andre forhold

Tillægsrisikoen betegner den proportion af en sygdomsforekomst - eller død - der kan tilskrives en given risikofaktor. Tillægsrisikoen beskrives ofte i relation til den gruppe, hvori eksponeringen forekommer, eller i relation til hele baggrundspopulationen: Hvor stor en del af sygdomstilfældene eller dødsfaldene i hele populationen kan tilskrives, at en del af populationen er eller har været udsat for en given risikofaktor? Forudsætningen for at beregne tillægsrisikoen er, at man kan beregne den relative risiko associeret med en given risikofaktor, hvilket kan være højst problematisk i en case-referent undersøgelse. Der kan dog alligevel være årsager til, at man foretrækker case-referent undersøgelsen frem for den prospektive undersøgelse. Dette gælder især ved undersøgelse af sjældent forekommede sygdomme. Det er muligt, at man kunne anvende en meget stor stikprøvepopulation og en lang follow-up periode og derved få et svar. Hvad man vælger, må i sidste ende afhænge af baggrunden for undersøgelsen og cost-benefit overvejelser, der vedrører de essentielle spørgsmål: Hvad er designets formål? Er det sandsynligt, at designet virker? Er det sandsynligt, at resultaterne af undersøgelsen har en høj validitet og reliabilitet?

Teoretisk er den eksperimentelle, prospektive interventionsundersøgelse at foretrække, hvis man ønsker at identificere årsags-sammenhænge. Det er den epidemiologiske metode, der kommer tættest på den klinisk kontrollerede undersøgelse. Uheldigvis er den både praktisk og økonomisk meget problematisk, hvorfor der kun er gennemført få vellykkede undersøgelser med dette design. Den prospektive, epidemiologiske undersøgelse giver imidlertid også glimrende mulighed for at afdække sygdomsårsager, selv uden intervention. Generelt er den prospektive undersøgelse således det bedste design i analytisk-epidemiologiske studier, men man skal dog huske på nogle vigtige potentielle problemer, også ved kohorteundersøgelsen. Deltagerne i en kohorteundersøgelse udgør aldrig et tilfældigt udsnit fra baggrundspopulationen for stikprøven. Talrige socioøkonomiske og biologiske faktorer bestemmer karakteristika ved de personer, der indgår i undersøgelsen. Ud over det velkendte fænomen, at de, der ikke møder op til en undersøgelse, de såkaldte non-respondere, har en dårligere uddannelsesmæssig baggrund, er mere syge og har en dårligere livsstil i helbredsmæssig forstand, kan der også ligge en bias i kohortens definitionstidspunkt, dvs aldersfordelingen i kohorten. Består kohorten af gamle mennesker, hvor risikofaktorer har gjort deres indflydelse gældende i lang tid og bortselektoreret de svageste, vil kohorten bestå af relativt stærkere overlevende, og sammenhængen mellem en risikofaktor og senere sygdom kan være vanskelig at afdække.

Også en tidlig kohortedefinition, eksempelvis ved undersøgelse af sygdomme med en lang latenstid, eller hvor langvarig eksponering er nødvendig for sygdomsudvikling, kan medføre en fejlagtig konklusion. Hvis hypotesen: "Rygning er en vigtig risikofaktor for lungekræft" - undersøges i en fem-års forløbsundersøgelse blandt en gruppe af 25-årige mænd, kunne man risikere følgende konklusion: "Rygning er ingen risikofaktor for udvikling af lungecancer for mænd under tredive". Det er velkendt, at risikoen ved rygning er stærkt afhængig af den akkumulerede rygning, både hvad angår mængde og tid, og et sådant resultat ville det ikke være vanskeligt at fortolke, da man i forvejen kender rygnings betydning for udvikling af lungekræft. Men hvis det nu var en anden risikofaktor, hvis virkingsmekanisme var ukendt?

Risikoen for i en kohorteundersøgelse ikke at identificere ægte risikofaktorer er altså til stede, men modsat er der også risiko for at tillægge en risikofaktor endnu større betydning som sygdomsfremkaldende faktor, end den egentlig har. Hvis en eksponering fører til sygdom og behandling, vil en grundigere diagnosticering af sygdom hos eksponerede føre til en tilsyneladende større forekomst af sygelighed alene i kraft af, at patienten har været hos en læge. Patienten vil være vidende om sin sygdom, hvilke karakteristika sygdommen har, og derved være i stand til at rapportere med større præcision - "se sygere ud" - fx i et spørgeskema.

Uanset det valgte design er det vigtigt, at man har et veldefineret formål med sin undersøgelse, og en eller flere præcise hypoteser. Når man vurderer en sygdoms eller andet udfalds sammenhæng med en risikofaktor, skal man tilstræbe at sammenligne lige med lige. Vha kontrol for konfoundere, effektmodifikation og bias kan man derved undersøge, om syge og ikke-syge adskiller sig mht den undersøgte risikofaktor, hhv om risikofaktoreksponerede og ueksponerede adskiller sig mht risikoen for udvikling af sygdom eller død.

Bias-minimering

Som nævnt har der været fokuseret meget - og med rette - på den potentielle indflydelse af bias i epidemiologiske undersøgelser. Selvom total elimination af bias næppe er mulig, bør bias minimeres, og en række tommelfingerregler - i form af spørgsmål - er opstillet af Sitthi-Amorn (1993), som man bør stille sig selv - og besvare - før, under og efter en undersøgelse for at reducere betydningen af bias.

Spørgsmålene gives efterfølgende i dansk oversættelse:

- ◆ Er undersøgelsespopulationen defineret?
- ◆ Repræsenterer den undersøgte population baggrundspopulationen?
- ◆ Er definitionen af eksponering og af udfald klar?
- ◆ Er case-definitionen præcis?
- ◆ Hvad er undersøgelsens inklusions- og eksklusionskriterier?
- ◆ Repræsenterer referenterne den samme population, som cases kom fra?
- ◆ Kan eksponeringsstatus have influeret på identifikationen af cases og referenter?
- ◆ Er de undersøgte grupper ens bortset fra eksponeringsstatus?
- ◆ Er målinger så objektive som muligt?
- ◆ Er studiet blindet i den grad det er muligt?
- ◆ Er follow-up'en tilstrækkelig?
- ◆ Er follow-up'en ens for alle grupper?
- ◆ Er den udførte analyse egnet?
- ◆ Er variabelgrupperne anvendt i analyserne defineret på forhånd?
- ◆ Støtter resultaterne rent faktisk fortolkningen?

Association og årsagssammenhæng

Vi har nu i så stor udstrækning, som det har været muligt, styr på fænomener, som kan have indflydelse på sammenhængen mellem risikomål og risikofaktorer: effektmodifikation, konfoundere, bias og studiedesign. Dette til trods kan vi stadig ikke vide, om sammenhængen mellem en risikofaktor og en given sygdom eller andet udfald er kausal.

En association defineres som graden af statistisk afhængighed mellem to udfald eller variable, uden at denne sammenhæng nødvendigvis er udtryk for en kausal relation, dvs en relation, hvor ændring i den ene bestemmer, er determinerende for, ændringer i den anden.

Som nævnt giver kohorteundersøgelsen mulighed for at afdække sygdomsårsager, selv uden intervention. Forudsætningen for at antage, at en association dækker over et årsagsforhold, er imidlertid, at en række kriterier er opfyldt, som beskrevet af den engelske forsker Bradford Hill allerede i midten af 1960'erne. Hill fremførte ni punkter, hvoraf især fire er vigtige:

1. Temporalitet (tidsmæssig sammenhæng) = årsagen er til stede før sygdommen
2. Associationens styrke = jo stærkere sammenhæng, desto større sandsynlighed for kausalitet
3. Plausibilitet (troværdighed) = associationen er i overensstemmelse med biologisk og lægevidenskabelig "commonsense"

4. Konsistens = associationen kan reproduceres i forskellige populationer og situationer.

Andre kriterier, der blev foreslået, var 5) Biologisk gradient = eksistensen af en dosis-respons kurve, 6) Specificitet = en "én årsag - én effekt" relation, 7) Kohærens = ingen konflikt med eksisterende viden om naturhistorien og biologien for den sygdom, der undersøges; dette kriterium er tæt relateret til plausibilitet, og det kan være vanskeligt at skelne mellem de to begreber, 8) Eksperimentel evidens, der kun er relevant i den eksperimentelle, prospektive undersøgelse, der - som nævnt - kun bruges sjældent, og 9) Analogi. Hvis en eksponering kan give anledning til en given sygdom, kan en anden lignende eksponering formentlig give anledning til en given lignende sygdom.

Selvom visse af Hills kriterier kan diskuteres, hvilket han udmærket selv var klar over, er der god ræson i disse kriterier, og det er under alle omstændigheder vanskeligt at foreslå mere valide alternativer. Der er i almindelighed enighed om, at temporalitetskriteriet er det vigtigste, og i hvert fald af afgørende betydning, når den relative betydning af en risikofaktor skal estimeres.

Hvis sammenhængen mellem en sygdom, der forekommer i stigende omfang, og eksponeringen, der har forårsaget denne stigning, er - i hvert fald tilsyneladende - indlysende, skal man naturligvis ikke lade sig handlingslamme eller tøve med at intervenere pga teoretiske, metodologiske overvejelser. Hvis kompleksiteten i en eventuel sammenhæng mellem eksponering og sygdom er stor, og målet for en intervention derfor uklart, må der derimod opstilles relevante hypoteser, og årsagen til en evt eskalerende sygdomshyppighed søges afdækket i et mere ideelt design end det blot observationelle.

Et eksempel fra det virkelige liv

Ved udgangen af 1980'erne havde der længe været mistanke om, at erhvervsmæssig langtidseksponering for organiske opløsningsmidler kunne medføre diffus hjerneskade, såkaldt kronisk toksisk encefalopati. Vi havde med data fra The Copenhagen Male Study lejlighed til at give et bud på sammenhængen. Nedenfor gengives artiklen i sin helhed, dog uden det engelske summary, som den så ud i Ugeskrift for Læger 1991; 153:493-6, hvorefter de overvejelser af metodologisk og anden art, der lå til grund for artiklens konklusion, vil blive systematisk gennemgået med adresse til de basale begreber, der er gennemgået i nærværende kapitel.

Cerebrale symptomer hos 3.387 mænd og erhvervmæssig udsættelse for organiske opløsningsmidler.

En epidemiologisk undersøgelse i The Copenhagen Male Study

Hans Ole Hein, Poul Suadicani & Finn Gyntelberg

Tidligere undersøgelser vedrørende sammenhængen mellem langtidsudsættelse for organiske opløsningsmidler og kronisk toksisk encefalopati har fokuseret direkte på en mulig association. Det har givet anledning til kritik, idet et sådant design kunne tænkes at medføre en overrapportering af såvel symptomernes sværhedsgrad som graden af erhvervmæssig udsættelse for organiske opløsningsmidler.

Denne kritik er relevant, og vi har derfor fundet det af interesse at granske problemet i en epidemiologisk undersøgelse, hvis primære formål er et helt andet: undersøgelse af sammenhængen mellem en række genetiske markører og risikoen for senere udvikling af kardi-ovaskulær sygdom. Spørgeskemaet i vores undersøgelse omfatter oplysninger om fysiske og psykiske arbejdsbetingelser, hvilket har muliggjort denne subundersøgelse.

Et andet kontroversielt spørgsmål har været, hvorvidt de cerebrale symptomer udelukkende eller overvejende skyldes akut forgiftning og derfor vil forsvinde, når ekspositionen ophører. I vores subundersøgelse har det været muligt at medinddrage tidligere eksponerede, som nu er pensionerede, og dermed belyse spørgsmålet om en eventuel symptomregression.

Der ses ikke tidligere at være udført epidemiologiske undersøgelser vedrørende forekomsten af kognitive forstyrrelser hos en bredt sammensat population med meget forskelligartet erhvervmæssig eksposition for organiske opløsningsmidler.

Subundersøgelsens baggrund og resultater er mere udførligt beskrevet i et tidligere arbejde (1).

Egne undersøgelser

Materiale

Undersøgelsen er baseret på en population af københavnske mænd, som er fulgt siden 1971. Oprindeligt omfattede populationen 5.249 mænd i alderen 40 til 59 år med en medianalder på 48 år.

I 1971 var hele populationen i arbejde, ansat på 14 større offentlige eller private virksomheder. Samtlige mandlige ansatte blev bedt om at deltage i undersøgelsen, hvis hovedformål var at undersøge sammenhængen mellem fysisk kondition, fysisk aktivitet på arbejdet/i fritiden og risikoen for udvikling af iskæmisk hjertesygdom (2).

I 1985-86 blev alle overlevende genindkaldt til undersøgelse på afsnittet for prospektiv medicin, medicinsk afdeling C, Københavns Amts Sygehus i Glostrup.

Kun deltagere, som ved undersøgelsen afgav valide svar i spørgeskemaet vedrørende den erhvervmæssige udsættelse for opløsningsmidler og svar vedrørende cerebrale symptomer, blev inkluderet i subundersøgelsen. Det drejer sig om 3.303 af i alt 3.387 undersøgte (97,5%).

Metoder

Undersøgelsen er en prævalensundersøgelse, som anvender retrospektive ekspositionsdata vedrørende organiske opløsningsmidler. Alle 3.387 deltagere besvarede et spørgeskema og gennemgik en klinisk og laboratoriemæssig undersøgelse.

- ◆ Spørgeskemaet indeholdt ca 400 spørgsmål om familiære lidelser, tidligere sygdomme, aktuelle sygdomme og symptomer. Desuden var der spørgsmål om brug af medicin, tobak og alkohol samt en række spørgsmål vedrørende fysiske, biologiske og psykologiske erhvervsekspositioner, sociale parametre og andre livsstilsfaktorer. I alt var spørgeskemaet på 24 sider.
- ◆ I forbindelse med den kliniske undersøgelse blev spørgeskemaet gennemgået af en læge sammen med deltageren. Fig. 5.1 viser spørgsmålene om cerebrale symptomer og erhvervmæssig eksposition for organiske opløsningsmidler.

Figur 1. Spørgeskema.

Har De inden for det sidste år lidt af anfald af svimmelhed?
<input type="checkbox"/> ja, et par gange årlig
<input type="checkbox"/> ja, et par gange månedlig
<input type="checkbox"/> ja, et par gange ugentlig
<input type="checkbox"/> ja, daglig
<input type="checkbox"/> nej
Er Deres hukommelse lige så god som Deres jævnaldrendes?
<input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> nej
<input type="checkbox"/> ved ikke
Har De problemer med at koncentrere Dem om den samme opgave i mere end en halv time ad gangen?
<input type="checkbox"/> ja
<input type="checkbox"/> nej
<input type="checkbox"/> ved ikke
Lider de af hovedpine?
<input type="checkbox"/> ja, et par gange om året
<input type="checkbox"/> ja, et par gange om måneden
<input type="checkbox"/> ja, et par gange om ugen
<input type="checkbox"/> ja, daglig
<input type="checkbox"/> nej
Har De på Deres nuværende eller tidligere arbejdspladser ofte, dvs flere gange om ugen eller mere, været udsat for opløsningsmidler (trichlorethylen, tetrachlor, etc) ?
<input type="checkbox"/> Hvis ja, angiv antal år

Blodtryk blev målt tre gange på højre arm med deltageren i siddende stilling ad modum London School of Hygiene (3). Cerebrovaskulære diagnoser indhentet fra spørgeskemaerne indgik som konfoundere i de multivariate analyser efter revaluering af svarenes validitet ved henvendelse til de respektive hospitalsafdelinger. Social klassifikation blev foretaget ad modum Svalastoga & Wolf (4).

Statistik

SPSS/PC+, PC-versionen af Statistical Package for the Social Sciences, er anvendt til Chi²-test og deskriptiv statistik. BMDP mainframe version er anvendt ved logistisk regressionsanalyse. Som signifikansniveau er valgt $p < 0,05$.

Resultater

Tabel 1 viser fordelingen af eksponerede, opgjort efter eksponeringsvarighed hos erhvervsaktive. I tabel 2 ses en oversigt over alder og eksponeringsvarighed hos erhvervsaktive og pensionerede. Eksponering på 5 år + blev valgt som et velegnet ekspositionsmål. I alt 295 indgår i den eksponerede gruppe, mens 77 deltagere, som angav eksposition på 1-4 år, er ekskluderet. Kontrolgruppen udgør således 2.931 mænd. Gennemsnitsalderen for såvel eksponerede som kontrolpersoner var 62,5 år. For at undersøge en eventuel regression af symptomerne efter ekspositionsophør har man udført separate analyser for pensionerede og erhvervsaktive. Af 1.602 pensionerede havde 178 været eksponeret i 5 år +, mens 117 ud af 1.701 fortsat erhvervsaktive havde været eksponeret 5 år +.

	5 år +	1-4 år	Ikke-eksponerede
	295 (8,9%)	77 (2,3%)	2.931 (88,7%)
Gennemsnitsalder, år	62,5	62,5	62,5
Median for eksponeringstid, år	16	2	0
Maksimal eksponeringstid, år	50	4	0

Tabel 1. Fordeling af eksponerede og ueksponerede mænd.

	Erhvervsaktive n = 1.701	Pensionerede n = 1.602
Eksponerede i 5 år +	117	178
Median for eksponeringstid, år	15	21
Gennemsnitlig eksponeringstid, år	17,3	19,5
Gennemsnitlig alder for eksponerede, år	58,5	65
Gennemsnitlig alder for ueksponerede, år	59	66

Tabel 2. Undersøgelsespopulation, erhvervsaktive og pensionerede fordelt efter ekspositionsvarighed.

Tabel 3 viser forekomsten af de fire analyserede udfaldsvariable: svimmelhed, hukommelsesproblemer, koncentrationsproblemer og hovedpine hos langtidseksponerede erhvervsaktive og langtidseksponerede pensionister. Endvidere ses resultatet af multiple logistiske regressionsanalyser mellem eksponerede og ikke-eksponerede erhvervsaktive og pensionister, hvorved fås et estimat for den "relative risiko" for tilstedeværelse af en af udfaldsvariablene. En række potentielle konfundere er inddraget i analyserne: apopleksi, diabetes mellitus (insulinkrævende og ikke-insulinkrævende), alder, socialgruppe, hypertension, tobaksrygning, alkoholforbrug, brug af CNS-medicin (neuroleptika, psykosedativa, antidepressiva og parkinsonismidler), commotio cerebri eller andre intrakranielle læsioner samt snorkning.

	Symptomprævalens		Odds ratio (m. 95% sikkerhedsgrænser) mellem eksponerede og ikke-eksponerede	
	erhvervsaktive/	pensionerede	erhvervsaktive	pensionerede
Svimmelhedsanfald	12,8%	/ 13,5%	NS	NS
Hukommelsesproblemer	22,9%	/ 21,6%	3,7 (2,8-4,9)***	1,8 (1,4-2,2)*
Koncentrationsbesvær	11,3%	/ 15,5%	3,7 (2,6-5,2)**	2,5 (1,9-3,1)**
Hovedpine	27,4%	/ 23,6%	NS	1,5 (1,2-1,8)*

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS = not significant

Tabel 3. Symptomprævalens hos erhvervsaktivt langtidseksponerede samt odds ratio mellem langtidseksponerede og ikke-eksponerede estimeret ved multipel logistisk regressionsanalyse.

Hypertension er her defineret som enten værende i antihypertensiv behandling og/eller med et målt blodtryk på 150/100 + mm Hg. Snorkning er defineret som snorken ofte eller næsten altid. Det fremgår af tabel 3, at klager over svimmelhed ikke er signifikant relateret til eksposition for organiske opløsningsmidler, hverken blandt erhvervsaktive eller pensionister. Hos erhvervsaktive er der dog en tendens, $p = 0,09$. Faktorer som tidligere brug af CNS-medicin og lav social placering viser en væsentligt stærkere association.

Symptomet hukommelsesproblemer er klart signifikant relateret til langvarig eksposition for organiske opløsningsmidler. Hos erhvervsaktive var eksposition for opløsningsmidler den eneste faktor, der signifikant var associeret med hukommelsesproblemer. I pensionistgruppen fandtes tidligere eksposition for organiske opløsningsmidler klart signifikant. Brug af CNS-medicin var dog stærkere associeret til hukommelsesproblemer.

Klager over koncentrationsproblemer er klart signifikant associeret til eksposition for organiske opløsningsmidler blandt erhvervsaktive, efterfulgt af brug af CNS-midler. Blandt pensionerede var tidligere eksposition for organiske opløsningsmidler ligeledes klart signifikant relateret til symptomet. Den faktor, der viste stærkest association til koncentrationsproblemer, var tidligere apopleksi, $p < 0,001$, odds ratio = 4,3. Brug af CNS-midler og tilstedeværelse af diabetes mellitus fandtes også signifikant associeret med nedsat koncentrationsevne blandt de pensionerede.

Hovedpine mindst 2 gange om måneden var ikke signifikant relateret til eksposition for organiske opløsningsmidler blandt erhvervsaktive. Her var den eneste signifikante association brug af CNS-medicin. Blandt pensionerede fandtes tidligere eksposition for organiske opløsningsmidler signifikant associeret til symptomet hovedpine. Tidligere commotio cerebri, brug af CNS-medicin, snorkning og alder var ligeledes signifikant associeret til symptomet.

Diskussion

I 1971, på det første undersøgelsestidspunkt, var alle deltagere erhvervsaktive. Populationen var således behæftet med en healthy worker effekt. Af de 3.303 mænd, der indgik i denne subundersøgelse, var i løbet af de følgende 15 år 1.602 blevet pensioneret, mens 1.701 fortsat var erhvervsaktive.

Gruppen af eksponerede for organiske opløsningsmidler bestod fortrinsvis af malere, mekanikere og reparatører, men også af en del ufaglærte arbejdere, som havde været beskæftiget med affedtning af metalkomponenter i DSB's Centralværksteder, KTAS, Postvæsenet eller Forsvaret. Kontrolgruppen omfattede andre reparatører og værkstedsarbejdere, som ikke havde været udsat for organiske opløsningsmidler, samt funktionærer.

Hovedpine fandtes at være signifikant hyppigere hos eksponerede i gruppen af pensionerede, hvilket ikke var tilfældet hos de fortsat erhvervsaktive. Der fandtes en tendens i retning af øget forekomst af svimmelhed blandt eksponerede erhvervsaktive, hvilket ikke sås blandt de pensionerede. Hovedpine og svimmelhed er to karakteristiske symptomer ved akut intoksikation. Imidlertid er der sket væsentlige arbejdshygiejniske forbedringer på de pågældende arbejdspladser gennem de senere år, hvorved risikoen for akutte intoksikationer burde være minimeret. Dette bestyrkes af den ikke-signifikante forskel i hyppigheden af hovedpine og svimmelhedssymptomer mellem eksponerede og ikke-eksponerede erhvervsaktive.

Problemet overrapportering er afgørende. Alle deltagere blev underrettet om, at det primære formål med undersøgelsen var at estimere nogle kardiovaskulære risikofaktorer. Spørgeskemaets spørgsmål vedrørende neurologiske symptomer var placeret som nr. 17-22 på side 8 og 9, mens spørgsmålet vedrørende erhvervsmæssige ekspositioner var nr. 157 på side 21. Det var derfor ikke umiddelbart nærliggende for deltagerne at korrelere spørgsmålene vedrørende symptomer og eksposition.

Hvis deltagerne i vores undersøgelse relaterer deres symptomer til tidligere udsættelse for organiske opløsningsmidler og på den måde overrapporterer, er det overraskende, at de akutte symptomer som hovedpine og svimmelhed ikke ses at være overrapporteret, eller hvorfor mønsteret, hvis de er, er et helt andet ved rapportering af kognitive forstyrrelser som hukommelses- og koncentrationsproblemer.

En anden væsentlig kilde til epidemiologisk bias er selektion. En responsrate på 75% af de overlevende efter 15 års observationstid er ganske høj. Der var et større deltagerfratald blandt de lavere socialgrupper, hvor eksposition er hyppigst. Hvis denne selektion skulle være ansvarlig for den fundne association mellem eksposition for organiske opløsningsmidler og cerebrale symptomer, ville det betyde, at den relative andel af eks-

ponerede mænd med hukommelses- og koncentrationsproblemer ville være mindre blandt udebliverne, eller at tidligere eksposition for organiske opløsningsmidler i udeblivergruppen ligefrem skulle have en præventiv virkning over for cerebrale symptomer senere i livet.

Endelig kan rapporteringsbias medføre en misklassifikation. Nogle, som rent faktisk kan have haft en kortere eller længere eksponeringsperiode mange år tilbage i tiden, kan meget vel tænkes at have svaret, at de aldrig har været eksponeret. Andre vil have haft en i toksikologisk sammenhæng negligabel eksposition, men vil have klassificeret sig selv som eksponerede. I begge tilfælde vil misklassifikationen kun kunne svække styrken af den fundne sammenhæng mellem eksposition og symptomer. Konfounder-kontrollen omfattede variabler med mulig relation til CNS-symptomer, herunder symptomet snorkning, fordi en tidligere analyse har vist korrelation mellem øget prævalens af kognitive forstyrrelser og snorkning (personlig meddelelse, Poul Jennum). Associationen mellem erhvervsmæssig eksposition for organiske opløsningsmidler i 5 år eller mere, hukommelsesproblemer og nedsat koncentrationsevne er stærk. De fundne forskelle kan ikke forklares ud fra forskelle i fordelingen af potentielle konfoundere mellem eksponerede og ikke-eksponerede. Eksempelvis var der ingen forskelle i alkoholforbruget eller forbruget af nervemedicin.

Hovedresultatet af vores undersøgelse er en konsistent korrelation mellem udsættelse for organiske opløsningsmidler gennem 5 år eller mere og de to kognitive symptomer: nedsat koncentrationsevne og hukommelsesproblemer. At symptomerne forekommer signifikant hyppigere i den eksponerede gruppe af pensionerede, indikerer, at der er tale om en langvarig, dvs kronisk, toksisk effekt.

Konkluderende understøtter vores subundersøgelse hypotesen om en kausal sammenhæng mellem relevant erhvervsmæssig eksposition for organiske opløsningsmidler i fem år eller mere og persisterende kognitive forstyrrelser hos midaldrende og ældre mænd.

Resume

I The Copenhagen Male Study, en epidemiologisk undersøgelse omfattende 3.387 mænd i alderen 53 til 75 år, afgav 3.303 mænd valide svar vedrørende erhvervsmæssig livstidseksposition for organiske opløsningsmidler, 4 cerebrale symptomer samt aktuel tilknytning til arbejdsmarkedet. I alt 295 mænd angav at have været erhvervsmæssigt eksponeret for organiske opløsningsmidler i en periode af 5 år eller mere. Af disse var 178 pensionerede, mens 117 fortsat var erhvervsaktive. I begge grupper havde de eksponerede mænd signifikant flere klager over nedsat koncentrationsevne og hukommelsesproblemer. Blandt de eksponerede, nu pensionerede mænd, fandtes tillige en højere prævalens af hovedpine. Blandt de eksponerede, fortsat erhvervsaktive, fandtes en tendens i retning af en højere prævalens af svimmelhed. Undersøgelsen er udført i et kardiovaskulært studie uden direkte fokus på sammenhængen mellem erhvervsmæssig udsættelse for organiske opløsningsmidler og cerebrale symptomer. Dette design reducerer risikoen for overrapportering. Hvis overrapportering var ansvarlig for de fundne forskelle mellem opløsningsmiddeleksponerede og de ikke-eksponerede, burde man vente et ensartet mønster i rapporteringen af akutte og kroniske symptomer. Dette var

ikke tilfældet. Vores resultater understøtter hypotesen om, at erhvervsmæssig eksposition for organiske opløsningsmidler i en periode af 5 år eller mere øger risikoen for udvikling af varige hukommelsesproblemer og nedsat koncentrationsevne.

Litteratur

1. Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Mixed solvent exposure and cerebral symptoms among active and retired workers. An epidemiological investigation of 3,387 men aged 53-74 years. *Acta Neurol Scand* 1990; 81: 97-102.
2. Gyntelberg F. Physical fitness and coronary heart disease in male residents in Copenhagen aged 40-59. *Dan Med Bull* 1973; 20: 1-4.
3. Rose GA, Holland WW, Crowley EA. A sphygmomanometer for epidemiologists. *Lancet* 1964; I: 296-300.
4. Svalastoga K, Wolf P. Social rang og mobilitet. København: Gyldendals Uglebøger, 1972.

Kommentarer til ovenstående artikel

De fleste begreber, der har været nævnt og beskrevet i dette kapitel, var relevante i ovenstående artikel: risikomål, risikofaktorer, relativ risiko, effektmodifikation, konfoundere, bias, studiedesign og fortolkning.

Risikomål

Prævalens af selvrapporteret hukommelsessvækkelse, koncentrationsbesvær, svimmelhed og hovedpine.

Risikofaktorer

Selvrapporteret erhvervmæssig eksponering for opløsningsmidler.

Relativ risiko

Pga af undersøgelsens retrospektive natur præsenteredes odds ratioen som det primære risikoestimat (i originalartiklen tillige prævalensproportions ratioen, der svarer til rate ratioen i den prospektive undersøgelse).

Effektmodifikation

Som beskrevet i artiklens baggrundsafsnit var vi klar over, at sammenhængen mellem langvarig erhvervmæssig eksponering for organiske opløsningsmidler og de undersøgte udfaldsvariable kunne være resultatet af en akut eller en kronisk effekt. Måske var der ingen sammenhæng hos mænd, der ikke længere var eksponerede. Pensioneringsstatus var altså en potentiel effektmodifikator. Da vi havde næsten lige mange stadig erhvervsaktive og pensionister, valgte vi at tage højde for en sådan mulig effektmodifikation ved at anvende stratificerede, altså separate analyser for erhvervsaktive og pensionerede.

Konfoundere

En lang række potentielle konfoundere blev inddraget i analyserne: apopleksi, diabetes mellitus (insulinkrævende og ikke-insulinkrævende), alder, socialgruppe, hypertension, tobaksrygning, alkoholforbrug, brug af CNS-medicin (neuroleptika, psykosedativa, antidepressiva og parkinsonismemidler), commotio cerebri eller andre intrakranielle læsioner samt snorkning.

Bias

Som diskuteret i artiklen var der en række væsentlige kilder til potentiel bias især relateret til rapportering både af eksponering og af udfald, men også selektion kunne være en væsentlig kilde til bias.

Studiedesign

Studiedesignet var en prævalensundersøgelse, der anvendte retrospektive eksponeringsdata vedrørende organiske opløsningsmidler. Dette design er således ikke optimalt til en vurdering af den relative betydning af opløsningsmidler for udvikling af kronisk toksisk betinget hjerneskade.

Fortolkning

Principielt havde dette studie altså adskillige metodologiske problemer, idet

- ◆ den temporale (tidsmæssige) dimension manglede
- ◆ vi måtte acceptere deltagernes egenrapportering både mht eksponering og udfald
- ◆ vi måtte acceptere, at hukommelsesbesvær og koncentrationsproblemer kunne fungere som relevante markører for diffus hjerneskade
- ◆ konfunderidentifikationen beroede i vid udstrækning på selvrapportering.

Alle disse potentielle fejkilder ville imidlertid tendere mod at udviske en eventuel sammenhæng mellem eksponering for organiske opløsningsmidler og udvikling af kronisk hjerneskade. Alligevel fandtes en klar sammenhæng. Resultatet indikerede dermed, at den reelle sammenhæng formentlig er langt stærkere. Man må også gøre sig klart, at designets formål ikke primært var at estimere den relative betydning af organiske opløsningsmidler for udvikling af hjerneskade, men blot forsøge at klarlægge, om en sammenhæng overhovedet kunne påvises. I de sidste 15-20 år er der sket væsentlige arbejds-hygieniske forbedringer, og bl.a. er oliebase-rede malinger i stor udstrækning blevet erstattet af vandbase-rede. Resultatet har været, at forekomsten af patienter med diagnosen kronisk toksisk encefalopati er faldet drastisk på landets arbejdsmedicinske klinikker.

Afsluttende bemærkninger

Selvom analytisk-epidemiologisk forskning som beskrevet har en lang række spilleregler, som man bør forsøge at leve op til, må man heller aldrig negligere "common sense", eller som udtrykt af professor William Kannel, en af stifterne af verdens første større prospektive epidemiologiske undersøgelse i Framingham USA: "If something looks goat, smells goat, and tastes goat, one might start thinking goat."

Ovenstående undersøgelse, der havde en skrap lugt af organi-

ske opløsningsmidler, er et sådant eksempel, og den analytiske epidemiologi vil utvivlsomt indtage en vigtig plads i fremtidens samfundsmedicin. Metodologisk er denne tværfaglige disciplin blevet stadig stærkere i de sidste par årtier, de biostatistiske værktøjer er blevet flere, og de gennem det sidste tiår stadig mere potente og prisbillige mikrodatamater har muliggjort, at forskeren inden for få minutter kan få svar på komplicerede spørgsmål, som det tidligere enten var umuligt at besvare eller i bedste fald en meget langvarig proces.

Litteratur

- Foldspang A, Juul S, Olsen J, Sabroe S. Epidemiologi. Sygdom og befolkning. 2. udg. København: Munksgård, 1986.
- Hennekens CH, Buring JE. Epidemiology in Medicine. Boston MA: Little, Brown and Company, 1987.
- Hill AB. The environment and disease: Association or causation? Proc R Soc Med 1965; 58: 295-300.
- Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. Epidemiology research: principles and quantitative methods. New York: Van Nostrand Reinhold, 1982.
- Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. Epidemiology research. Lifetime Learning 1982.
- Last JM. A Dictionary of Epidemiology. New York University Press, 1983.
- McDonald C (ed). Epidemiology of Work Related Diseases. London: BMJ Publishing Group, 1995.
- Olsen J, Overvad K, Juul S. Analytisk Epidemiologi. En introduktion. København: Munksgård, 1994.
- Rothman KJ. Modern epidemiology. Boston MA: Little, Brown and Company, 1986.
- Sackett DL. Bias in analytic research. J Chron Dis 1979; 32: 51-63.
- Sitthi-Amorn. Bias. Lancet 1993; 342: 286-88.

KAPITEL 6

**Biomarkører
og biologisk
monitering**

*Jytte Molin
Christensen
Anne Helene Garde
Åse Marie Hansen
Jesper Kristiansen
Lisbeth E. Knudsen*

Biomarkører og biologisk monitorering

Den teknologiske udvikling har medført øget anvendelse af farlige stoffer og dermed risiko for arbejdsmiljøeksponering, som kan forårsage toksiske effekter og evt alvorlige sygdomme. Begrænsning i udsættelse for farlige stoffer er et lovgivningskrav, og vha arbejdshygiejniske målinger måles koncentrationer i luften, og disse sammenlignes med grænseværdier. De danske eksponeringsniveauer er imidlertid ofte så lave og/eller stofferne så reaktive, at koncentrationerne er under det, man kan måle. Ligeledes ændres koncentrationen i luft ofte over tid og sted, hvorfor opsamling af repræsentative luftprøver er vanskelig. For mange stoffer gælder ligeledes, at det er de punktvis høje eksponeringer, som er særlig sundhedsskadelige, og der findes ikke sikre metoder til at opsamle disse. Desuden tager arbejdshygiejniske målinger ikke højde for mulig optagelse gennem hud, mave-tarmkanalen og lugtenerven. Endvidere kan stoffer i organismen omdannes til aktive stoffer med uønskede biologiske effekter. Derfor har opmærksomheden i de senere år været rettet imod anvendelse af biomarkører, dvs sporstoffer (markører), som findes i biologiske medier, eller ændringer af de i blod, urin og væv naturligt forekommende stoffer. Måling af visse biologiske markører kan angive, om der er sket skade på det biologiske system, og der tages på denne måde højde for variation i absorption samt forskel i levevaner, køn, alder, størrelse, rygning, alkohol, medicin- og fødeindtagelse. Ydermere kan genetiske egenskaber og vaner spille en rolle. Arbejdsbelastningen kan variere, og for mange kemikalier gælder, at mængden, som absorberes, er korreleret til den indåndede mængde. Mange stoffer optages effektivt gennem huden, og for det meste er denne eksponeringsvej ikke relateret til koncentrationen i luften. Støvs partikelstørrelse har indflydelse på, hvor stoffer aflejres i luftvejene og den mængde, der efterfølgende absorberes. Endvidere kan

varierende mængder absorberes under øjensynligt samme vilkår pga forskel i arbejdsvaner.

Biologisk monitorering er defineret som systematisk eller gentagen måling af stoffer, deres metabolitter eller reaktionsprodukter i vævsvæsker, sekreter, ekskrementer, udåndet luft eller hvilken som helst kombination af disse media mhp at vurdere eksponering og helbredsrisiko og forebygge helbredsskader. Biologisk monitorering er et lovkrav ved eksponering for bly i arbejdsmiljøet. I praksis omfatter biologisk monitorering måling af en hvilken som helst biomarkør i systematisk indsamlet biologisk prøvemateriale. Målestrategien kan være enkeltstående eller gentagen. Enkeltstående biologisk monitorering af udvalgte komponenter i udvalgte grupper eller individer er det hyppigst forekommende i forskningsprojekter. Denne målestrategi giver en beskrivelse af aktuel eksponering, og den kan føre til, at der gribes ind over for de aktuelle forhold i arbejdsmiljøet (intervention). Biologisk monitorering har de senere år fået en central placering i helbreds- overvågning til vurdering af både eksponeringer i arbejdsmiljøet og sundhedsrisici. Det gælder især effekter, som først kan påvises, når de er blivende, fx allergi og kræftsygdomme, som følge af udsættelse for en række metaller. De seneste år er der sket en stigende udbredelse af biologisk monitorering af metallerne arsen, bly, chrom, cadmium, mangan, phenol og visse opløsningsmidler og deres metabolitter, fx styren, benzen og toluen. Biologisk monitorering er også indeholdt i EU-Direktiver og national lovgivning til vurdering af eksponering og sundhedsrisiko. Biologisk monitorering er derfor nyttig som en overbygning på luftforureningsmålinger, især når der er risiko for hudabsorption, når eksponeringen varierer, og hvor der anvendes åndedrætsværn.

Intern dosis

Begrebet intern dosis er ikke helt entydigt, idet det i praksis anvendes på tre forskellige måder. For det første kan intern dosis være mængden af stoffet absorberet for nylig. Hvis halveringstiden er kort, vil en biologisk komponent afspejle mængden af absorberet stof i perioden kort før prøvetagning, fx kan koncentrationen af et opløsningsmiddel i udåndingsluft eller blod afspejle eksponeringen samme dag.

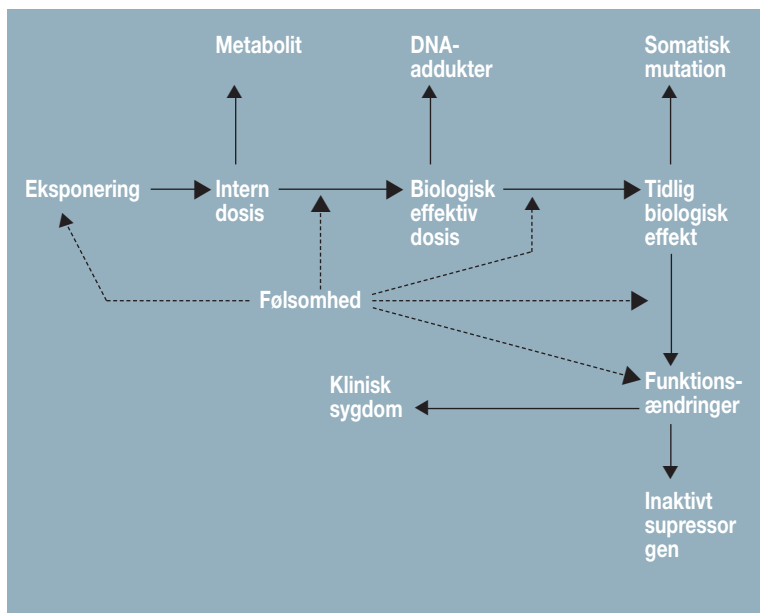
En anden definition af intern dosis er stofmængden i en eller flere udvalgte dele af kroppen (compartments) eller hele kroppen (integreret dosis). Fx afspejler koncentrationen af polychlorede biphenyler i blod den akkumulerede mængde i fedtvæv.

Endelig kan intern dosis også betyde mængden af stoffet bundet til kritiske steder i kroppen, nemlig der hvor stoffet har en biologisk virkning, fx kritiske målorganer. Dette betegnes også den biologisk effektive dosis. Et eksempel er måling af kulilte-hæmoglobin eller methæmoglobin ved eksponering for kulilte.

Klassifikation af biomarkører

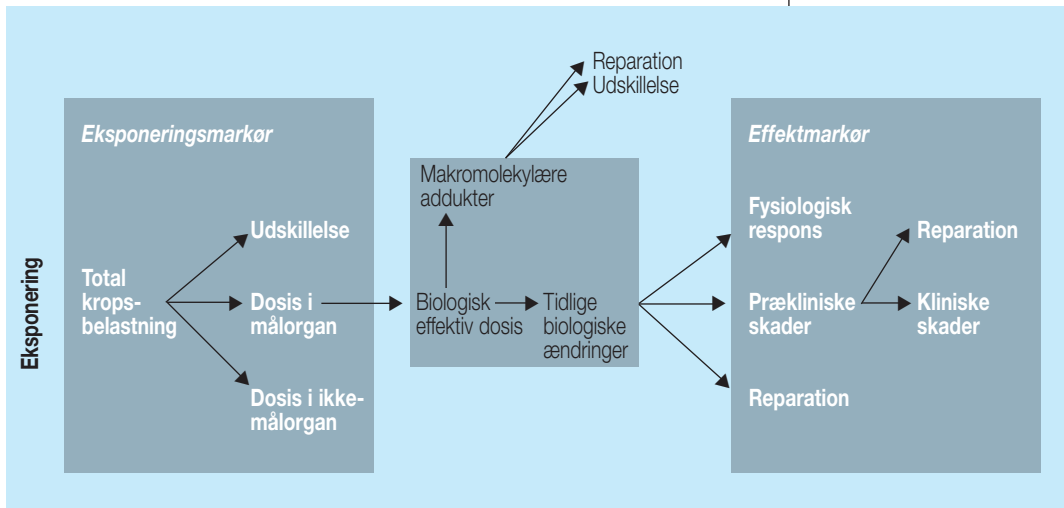
Traditionelt opdeles biomarkører i markører for eksponering (intern dosis ved måling af metabolitter), effekt (biologisk effektive dosis og tidlig biologisk effekt) og følsomhed, som skitseret i fig. 6.1.

Figur 6.1. Skematisk beskrivelse af mulige reaktionsveje i kroppen ved eksponering i arbejdsmiljøet.



Biomarkører for eksponering

Ved måling af biomarkører for eksponering fås et mål for koncentrationen af stoffet, dets omdannelsesprodukt eller koncentrationen af reaktionsproduktet mellem stoffet og et stof, der på naturlig vis indgår i kroppens opbygning eller stofskifte. I fig. 6.2 er vist, hvorledes biomarkører indgår på flere niveauer. Det kan også være en koncentrationsændring af et stofskifteprodukt mv. Disse stoffer måles sædvanligvis i blod og urin.



Figur 6.2 Eksponerings- og effektmarkører.

Som eksempler på eksponeringsmarkører, hvor man måler på selve stoffet, kan nævnes metallerne aluminium, bly, cadmium, chrom, mangan, nikkel, selen, vanadium mv. Ved udsættelse for forbrændingsprodukter, der indeholder de såkaldte polycykliske aromatiske hydrocarboner (PAH), måles metabolitten 1-hydroxypyren i urin, og der er fundet forhøjet udskillelse af denne metabolit hos bl.a. støberiarbejdere og buschauffører. PAH-eksponering kan også medføre skade af DNA på molekylært niveau, dannelse af makromolekylære addukter, DNA-addukter, der er reaktionsprodukter mellem PAH og DNA. Der er i urin målt forhøjede PAH-addukter hos buschauffører. Endelig kan der måles DNA-strengbrud, dvs skader på DNA, der medfører, at DNA går i stykker, og som følge deraf sker der mutationer (ændringer af arvemassen) i udvalgte dele af DNA.

I forbindelse med en eksponering er det relevant at få et mål for den biologisk effektive dosis. En indirekte metode består i måling af protein-addukter, fx addukter til blodets hæmoglobin eller albumin, i stedet for DNA-addukter. Visse alkylende stoffer og pesticider danner addukter med aminosyrer i hæmoglobin, som specifikt kan måles. Således danner N-arylpesticider aromatiske amin-metabolitter, som giver addukter med cystein-93 i hæmoglobinet.

Biomarkører for effekt

En biomarkør for effekt er en målelig biokemisk, fysiologisk eller anden ændring i organismen, dvs biokemiske forandringer, som

kan være reversible eller et udtryk for mulig sygdom, fig. 6.2.

I en kompleks eksponeringssituation, hvor der er samtidig udsættelse for mange forskellige toksiske stoffer, kan det være mere relevant at måle effekter, der er et resultat af skadelige påvirkninger, frem for at måle enkeltpåvirkninger. Biomarkører for tidlig effekt kan være måling af en hæmning af enzymaktivitet, celle- eller vævsfunktioner. Nedsat acetylcholinesterase-aktivitet ses fx ved udsættelse for phosphorholdige pesticider.

Cadmium forårsager skade på nyrerne, og dette kan måles ved øget udskillelse af beta 2-mikroglobulin og retinolbindende protein, en tidlig markør for cadmiumeksponering.

Biologisk monitorering for tidlig effekt kan foretages ved cytogenetisk måling, dvs måling af ændringer i cellers kromosomer, eller DNA repair-måling, dvs måling af den naturlige reparation af følgerne af skadelige påvirkninger - en reparation, som løbende forekommer. Ved disse målinger påvises genetisk skade typisk i de hvide blodlegemer, idet disse blodceller kan afspejle skader sket i andre væv. Ændringer af arvematerialet spiller en stor rolle i aktiveringen af visse proto-onkogener, som er forstadier til kræftgener. Der er påvist en sammenhæng mellem arvelig kromosom-ustabilitet og øget kræfthyppighed. Visse kromosomskader er så store, at de kan ses i mikroskop som fx brud eller mangler.

DNA-reparationssystemet har en afgørende rolle mht at opretholde det genetiske materiale på celleniveau intakt. Cellerne udsættes dagligt for omkring 100.000 skader fra de naturlige oxidationsprocesser og fremmedstoffer i arbejdsmiljø, miljø, kost og andre livsstilsfaktorer. Cellerne har effektive reparationssystemer, som er i stand til at reparere skaderne. Et lavt DNA-reparations-system kan betyde øget risiko for helbredsskader ved arbejdsmiljøpåvirkninger. DNA-reparations-aktivitet kan måles i blodlegemer vha metoden unscheduled DNA-syntese (UDS), en metode hvor DNA i et reagensglas påføres en skade, hvorefter reparation af denne måles.

Biomarkører for følsomhed

Nogle individer er mere følsomme over for kemisk påvirkning end andre. Evnen til at nedbryde visse stoffer varierer og er til dels arveligt betinget. Man har i dag identificeret en del genetiske sygdomme, et eksempel er mangel på enzymet glukose-6-phosphat-dehydrogenase i blodceller. Personer, der mangler dette enzym, anses for at have en øget risiko for anæmi ved eksponering for aromatiske aminer. Flere vigtige enzymer, herunder dem, der tilhører familien P450-monooxygenaser, er tilsyneladende

de kontrolleret af et enkelt gen. Andre vigtige gener koder for N-acetyltransferase og μ -glutathiontransferase. Mange af disse gener er blevet karakteriseret, og en persons genotype (arvelige egenskaber) kan bestemmes via en blodprøve (se i øvrigt kapitel 7 om individuel følsomhed).

Enzymaktiviteten, dvs fænotypen, kan måles, ved at der gives en dosis af et stof, der nedbrydes af det pågældende enzym. Sådanne genetiske forskelle kan således betyde, at nogle mennesker langsomt metaboliserer aminer; disse personer tilhører "slow" acetylator fænotypen og kan identificeres ved deres nedsatte evne til at acetylere sulfonamider. Slow acetylator typen, som har lav aktivitet af N-acetyltransferase, har en større risiko for at udvikle blærecancer og isoniazid-induceret neurotoksicitet.

Glutathion er et peptid, der findes i celler, især i stor mængde i leveren, og er af stor betydning for "afgiftning", idet dette peptid opfanger frie radikaler. Der findes derfor nogle mennesker, der bedre tåler visse toksiske stoffer, idet disse hurtigt metaboliseres til ikke-toxiske metabolitter, mens andre mennesker bliver syge. Biomarkører for følsomhed spiller en rolle i vurderingen af individuelle forskelle, fx måles glutathion-S-transferase (GST), der et enzym med varierende aktivitet afhængigt af fænotype. Der er fundet en stærk sammenhæng mellem øget hyppighed af lunge- og blærecancer hos individer med lav GST-enzymaktivitet.

Undersøgelse af geno/fænotype anvendes i dag i forskningen, og resultaterne viser, at arvelige faktorer spiller en væsentlig rolle for den enkelte persons følsomhed over for påvirkninger fra miljø og arbejdsmiljø. Der er i dag allerede udviklet metoder, som kan anvendes til vurdering af de pågældende faktorer, men en mere rutinemæssig anvendelse kan først komme på tale, når der foreligger bedre muligheder for at tolke resultaterne.

Eksempler på valg af biomarkører

Ved valg af biomarkører er det vigtigt, at de om muligt giver mulighed for at vurdere den faktiske optagelse af stofferne - "den indre dosis/belastning" - og dermed også risikoen for den enkelte arbejder.

Biomarkører for neurotoksiske påvirkninger

En lang række stoffer i arbejdsmiljøet kan forårsage skader på centralnervesystemet (CNS) og/eller det perifere nervesystem (PNS). Som eksempler kan nævnes kviksølv og organiske kviksølvforbindelser, triethyltin, bly, aluminium, mangan samt diverse organiske forbindelser som styren, pesticider og organiske opløsningsmidler.

Neurotoksicitet kan vurderes på flere måder, bl.a. vha neurofysiologiske undersøgelser (fx nerveledningshastighed, nerveledningspotentiale), adfærdstest (hukommelse, indlæring osv) og neurokemiske målinger. Anvendelsen af kemiske og biokemiske markører for neurotoksicitet kompliceres af, at hjernen er relativt utilgængelig for prøvetagning og målinger af stofkoncentrationer. Endvidere er hjernen beskyttet af blod-hjernebarrieren, som både sætter en begrænsning for adgangen for neurotoksiske stoffer og for udskillelsen af metabolitter og stoffer, der markerer biokemiske forandringer eller funktionsforstyrrelser i hjernen. En stor del af biomarkører for neurotoksicitet er derfor baseret på perifere markører i fx blod, blodceller, blodplasma eller urin, og som formodes at afspejle tilsvarende markørers tilstand i CNS eller PNS (såkaldte surrogatmarkører).

Organiske opløsningsmidler, fx xylen, toluen, chlorerede organiske stoffer, mineralisk terpentin osv, passerer relativt nemt blod-hjernebarrieren og akkumuleres i lipidholdigt væv. Generelt kan disse stoffer måles i blod, urin eller udåndingsluft. I blod eller urin kan de bestemmes med headspace GC eller, efter ekstraktion med fx hexan, med TLC eller GC. Alternativt kan man måle metabolitterne i urin, blod eller udåndingsluften. De væsentligste metabolitter af toluen og xylen, hhv hippursyre og methylhippursyre, er velegnede som eksponeringsmarkører. Chlorerede organiske stoffer, som fx 1,1,1-trichlorethan, trichlorethylen, tetrachlorethylen o.a. metaboliseres primært til trichloreddikesyre, som udskilles i urin.

Pesticiderne udgør en stor og kemisk set varieret gruppe, fx organophosphater (bl.a. malathion, parathion), carbamater, dithiocarbamater (bl.a. thiram, disulfiram, zineb, maneb), organochlorpesticider (lindan, dieldrin, aldrin, DDT mv) og forskellige organometalforbindelser af kviksølv, arsen samt andre. Blandt de nævnte hører organophosphaterne og carbamater til de mest neurotoksiske. Den neurotoksiske virkning af disse stoffer skyldes hæmning af enzymet acetylcholinesterase, således at neurotransmitteren acetylcholin akkumuleres ved nerveenderne. Det samme enzym, acetylcholinesterase, findes i røde blodlegemer, og inhiberingen af blodcelle-acetylcholinesterase bruges derfor som biologisk markør for eksponering for organophosphat- og carbamidpesticider. Alternativt kan man bruge aktiviteten af et beslægtet enzym, cholinesterase i plasma som biomarkør.

Andre eksempler på enzym-surrogatmarkører er monaminoxidase B (MAO-B) i blodplader samt dopamin- β -hydroxylase (DBH) i serum. Aktiviteten af disse enzymer er blevet brugt i forbindelse med monitorering af personer eksponeret for hhv styren og mangan. MAO-B er involveret i den oxidative deaminering af neurotransmitteren dopamin og andre aminer. Dets aktivi-

tet i blodplader formodes at afspejle aktiviteten af det tilsvarende enzym i nervecellerne. DBH frigøres fra nerveenderne ved nerveaktivitet, og aktiviteten i serum af dette enzym formodes derfor at afspejle nervecellernes "affyringsaktivitet". Der er ingen klar mekanistisk forklaring på sammenhængen mellem de nævnte enzymers aktivitet og eksponeringen for hhv styren og mangan. Påvirkningen kan enten være indirekte, fx ved at styren eller mangan ændrer hastigheden af dopamin-omsætningen i CNS, eller, for styrens vedkommende, ved direkte hæmning af enzymaktiviteten (mangan har ingen direkte effekt på MAO-B aktiviteten).

En anden markør foreslået til monitorering af neurotoksisk effekt af styren, bly og mangan er prolaktin i serum. Prolaktin er et hormon, hvis udskillelse af hypofysen inhiberes af dopamin. En forhøjelse af koncentrationen af prolaktin i serum formodes derfor at afspejle en neurotoksisk påvirkning af dopaminstofskiftet, såfremt andre årsager (psykiske påvirkninger) kan udelukkes.

Den biokemiske ubalance initielt induceret af et neurotoksisk stof kan i længden føre til celledbrydning og synlige nerve-læsioner. Sådanne læsioner ytrer sig bl.a. som skader på nervecellernes myelinskede. Måling af myelin basisk protein (MBP) i serum er derfor blevet foreslået som en mulig indikator for nerveskader. Anvendeligheden af denne biomarkør mangler dog stadig at blive grundigere belyst i flere studier.

Biomarkører for kræftfremkaldende påvirkning

Et eksempel på anvendelse af biomarkører ved påvirkning af kræftfremkaldende stoffer er analyse af udskillelsen af kræftfremkaldende stoffers omdannelsesprodukter. Ved forbrænding af organiske produkter dannes de såkaldte polycycliske aromatiske hydrocarboner (PAH), som af kroppen omdannes til mere vandopløselige omdannelsesprodukter. Der er således fundet forhøjet udskillelse af omdannelsesproduktet 1-hydroxypyren i urin hos jernstøberiarbejdere.

Et andet eksempel er udsættelse for PAH, der kan medføre DNA-skade på molekylært niveau, dannelse af DNA-addukter, dvs reaktionsprodukter mellem fremmedstoffet og DNA. DNA-addukter kan måles i DNA, som er udvundet fra forskelligt væv. Der er fundet forhøjet PAH-adduktniveau i lungevæv og hvide blodlegemer hos koksværks-arbejdere.

En tredje anvendt metode er at måle DNA-strengbrud, dvs skader på DNA, der giver anledning til opbrydning af DNA i mindre stykker. DNA-strengbrud ses fx hos patienter udsat for specielle typer af kræftmedicin. Endelig kan mutationer (forandringer) i udvalgte dele af DNA (typisk dele af et gen) måles. Det ser ud, som om de genspecifikke mutationsmønstre, som fremmedstof-

ferne fremkalder, er karakteristiske for netop disse fremmedstoffer.

I en normalt kompleks eksponeringssituation kan det være mere relevant at se efter effekter, der er resultatet af skadelige påvirkninger, frem for at prøve at lede efter enkeltpåvirkninger. En indirekte metode til bestemmelse af biologisk effektive doser (fig. 6.1) ved eksponering for kræftfremkaldende stoffer består i måling af protein-addukter, fx addukter til blodets hæmoglobin, i stedet for DNA-addukter. En anden er målingen af DNA-reparationsprodukter i urin.

Biologisk monitorering for tidlig effekt kan foretages ved cytogenetisk måling, dvs måling på ændringer i cellers kromosomforhold, eller repairmåling, dvs måling af den naturlige reparation af følgerne af skadelige påvirkninger - en reparation, der foregår hele tiden. Fx ved oxidativ DNA-skade, som typisk opstår ved tilstedeværelse af reaktive oxygenforbindelser (oxidativt stress), kan der måles reparations- og omdannelsesprodukter som 8-hydroxydeoxyguanosin i urin. Ved cytogenetisk måling påvises graden af genetisk skade, typisk i de hvide blodlegemer. Selvom blodlegemerne kan være forskellige fra det væv, hvor kræftudviklingen forventes at foregå, afspejler blodcellerne ofte skader, som er sket i andre væv. Kromosomskader i vævsceller hænger sammen med kræftudvikling. Ændringer af kromosomer spiller også en stor rolle i aktiveringen af nogle proto-onkogener, dvs forstadier til kræftgener. Man har påvist en sammenhæng mellem arvelig kromosom-ustabilitet og øget kræft hyppighed.

Kromosomskader, der er så store, at de kan ses i mikroskop, kan være strukturelle kromosomafvigelse, fx manglende dele af kromosomer, brud på kromosomer eller ringformede kromosomer. Kromosomskader kan også ses i de såkaldte søsterkromatid-udvekslinger, som repræsenterer reciprokke (gensidige) intrakromosomale udvekslinger mellem de to parallelle kromosomhalvdele (søsterkromatider). Man vil ligeledes kunne se mikrokerner, som repræsenterer dele af kromosomer, eller mangel på hele kromosomer.

DNA-reparationssystemet spiller en afgørende rolle mht at opretholde reproducerbarheden i det genetiske materiale på celle-niveau. Adskillige typer medfødte lidelser med manglende eller nedsat reparation viser øget risiko for kræftudvikling. Et lavt DNA-reparationsniveau hos medikamentelt og arbejdsmæssigt udsatte personer kan også betyde en øget risiko for helbreds-skader. Biologisk monitorering af DNA-reparationsaktivitet hos mennesker kan bl.a. måles i blodlegemer (lymfocytter og monocytter) vha metoden unscheduled DNA-syntese (UDS). De isolerede celler påføres først en DNA-skade i reagensglas, hvorefter reparationen af denne skade måles, mens cellerne forhindres i at

dele sig. Udvalgte eksempler på nyttige biomarkører ved genotoksiske påvirkninger er vist i tabel 6.1 og 6.2.

Udsættelse	1-hydroxypyren
	8-hydroxydeoxyguanosin i urin
	Mutagen aktivitet i urin
	DNA-addukter
	DNA-strengbrud
	Protein-addukter
Effekt	Kromosom-afvigelse
	Søsterkromatid-udvekslinger
	Mikrokerner
	DNA-reparation
	Mutationer i gener eller andre DNA-sekvenser

Tabel 6.1. Eksempler på nyttige biomarkører med genotoksiske udsættelse og tidlig biologisk effekt.

Markør	Celle/vævs-prøver
Kromosom-afvigelse	Lymfocytter
Søsterkromatid-udveksling	Lymfocytter, knoglemarv
Mikrokerner	Lymfocytter
Punktmutationer	Lymfocytter og andet væv
DNA-addukter	DNA isoleret fra celler/væv
Protein-addukter	Hæmoglobin, albumin fra blod
DNA-strengbrud	DNA isoleret fra celler/væv
Onkogen-aktivering (mutationer/onkoproteiner)	DNA eller specifikke proteiner isoleret fra celler/væv
DNA-reparation	Isolerede celler fra blod
Sædkvalitet	Sædceller isoleret på forskellige udviklingstrin

Tabel 6.2. Biomarkører, der anvendes i genetiske undersøgelser af genotoksiske udsættelse, og de mest anvendte celler/væv.

Øgede niveauer af kræftfremmende (onkogene) proteiner kan påvises hos personer, som har været udsat for polyaromatiske kulstof-forbindelser eller polychlorerede biphenyler (proteinprodukterne af de såkaldte ras- og fes-onkogener). Tilsvarende øgede niveauer af ras-onkogen p21 proteinet forbindes med en øget risiko for lungecancer, bedømt ud fra målinger på personer, der har udviklet kræft. Måling af forhøjede serumniveauer af dette onkogen p21 protein og af et tumor suppressor protein p53 kan i dag ikke anvendes i sygdomsforebyggelse, selvom der i enkelte forskningsprojekter er fundet en sammenhæng mellem

proteinniveau og øget kræfthyppighed; metodernes pålidelighed og validitet er ikke tilstrækkeligt belyst.

Markører for fysiske og psykiske påvirkninger

Det psykiske arbejdsmiljø er i fokus de seneste år, hvor der er sket en kraftig stigning i antallet af anmeldte helbredsskader pga psykosociale risikofaktorer på arbejdet. Psykiske effekter er blandt de væsentligste arbejdsmiljøproblemer i servicebetonede brancher som fx rengøring, inden for social- og sundhedsområdet samt i undervisning og forskning. I transport-, tekstil- og beklædningsbranchen, hotel og restauration, anden service- og tjenesteydelse og nærings- og nydelsesmiddelindustrien blev psykiske påvirkninger vurderet blandt "væsentlige arbejdsmiljøproblemer".

Symptomerne på psykiske påvirkninger kan være af fysisk eller psykisk karakter. De fysiske symptomer kan være akutte eller kroniske. De opstår ved samvirkende effekter af ydre krav i arbejdsmiljøet, den personlige oplevelse af den totale arbejdsplads samt ens evne til at "mestre" ("cope with") de ydre krav. Det sidste er både afhængigt af personlighedstypen og af ressourcer, socialt netværk osv. Afhængigt af udbyttet af denne proces giver de ydre krav anledning til nogle umiddelbare effekter, der ses som adfærdsmæssige ændringer, personlighedsændringer og fysiologiske ændringer. Varer tilstanden ved, kan de fysiologiske ændringer blive kroniske og dermed give anledning til mere langsigtede fysiske helbredsskader.

En række undersøgelser har vist, at psykosociale påvirkninger og/eller bevægeapparatbelastninger kan føre til ændringer i hormonkoncentrationer i blod, urin og sput. Dette er hensigtsmæssigt i forbindelse med korterevarende stresspåvirkninger, hvor der kræves en aktivering af kroppens beredskab gennem det sympatiske nervesystem. En sådan aktivering medfører, at hjertefrekvensen og blodtrykket stiger, blodsukker mobiliseres fra glykogendepoter i leveren og transporteres med blodet til den arbejdende tværstribede muskulatur, og samtidig hæmmes blodtilførslen til indvolde og hud. En langvarig aktivering af det sympatiske nervesystem som følge af længerevarende stress er derimod u hensigtsmæssig, idet kroppen har brug for genopbygning. Længerevarende stress hæmmer endvidere immunforsvaret og dermed modstandskraften over for sygdomme.

Kronisk stress kan karakteriseres ved, at nogle biokemiske processer aktiveres, og andre deaktiveres, således at den endokrine balance forskydes. Denne tilstand menes at kunne medvirke til udvikling af bl.a. hjerte-karsygdomme, allergi, kræft og hjernesygdomme.

Hvor der ikke er en ydre kemisk påvirkning, kan ændringer i

koncentrationen af naturligt forekommende hormoner anvendes som biomarkører. Eksempler på biomarkører er adrenalin, noradrenalin og kortisol, der stiger i forbindelse med akutte fysiske og psykiske påvirkninger. Andre markører vil kunne anvendes til at vurdere et længerevarende skift i kroppens energifrigørende processer (fx kortisol og glukeret hæmoglobin-A_{1c}, som afspejler den gennemsnitlige koncentration af glukose i blod) og genopbyggende processer (fx testosteron og dehydroepiandrosteron-sulfat). Nogle biomarkører afspejler forskellige psykiske påvirkninger. Koncentrationen af adrenalin stiger ved en akut psykisk påvirkning, fx afholdelse af foredrag. Koncentrationen af prolaktin i serum stiger ved passivitet og modløshed i krisesituationer, mens en aktiv tilgang til problemet medfører en nedsat prolaktinkoncentration.

Hormonerne anvendes endnu kun i forbindelse med forskningsprojekter. Generelt er der i forbindelse med tidligere undersøgelser af koncentrationen af biomarkører i forbindelse med stress anvendt univariat statistik. Dvs at man har forsøgt at anvende en enkelt markør for stress, men det har ikke været muligt at udpege en sådan, idet stress er en meget kompleks tilstand kendetegnet ved komplekse fysiologiske sammenhænge. Denne kompleksitet må derfor beskrives, ved at man anvender flere biomarkører og uddrager den optimale information fra disse data ved at benytte multivariate matematiske og statistiske redskaber.

Markører for indeklimapåvirkninger

Indeklimaproblemer dækker over en række kemiske, fysiske, biologiske og psykologiske faktorer (og kombinationer heraf). Symptomerne som følge af indeklimaproblemer går fra forskellige grader af slimhindeirritation til alvorligere symptomer som kvalme, hovedpine, åndedrætsbesvær, svimmelhed, koncentrationsbesvær mv. Årsagerne til de nævnte symptomer er endnu ikke afklarede. En af grundene er, at indeklimaproblematikken er meget kompleks med mulige forureninger fra byggematerialer, mennesker (isopren, tobaksrøg mv), kontormaskiner (ozon og reaktive forbindelser heraf), udefrakommende forurening (ozon), forureninger fra rengøringskemikalier osv. Belysning af indeklimaproblemer ved biologisk monitorering er derfor stadig i sin vorden.

Passiv rygning er dog et eksempel på et indeklimaproblem, hvor biologisk monitorering er velunderbygget. Særligt udsatte er beskæftigede i kontor og administration, social- og sundhedsområdet, undervisning og forskning samt hotel- og restaurationsbranchen. Tobaksrøg indeholder bl.a. benzen, polycykliske aromatiske hydrocarboner (PAH), nitrosoforbindelser, vinylchlorid,

tungmetaller, samt en række stoffer og derivater brugt i tobaksdyrkingen, herunder DDT og malathion. I alt er identificeret over 3.800 stoffer i tobaksrøg. Blandt effekterne af passiv rygning er akutte symptomer som øjenirritation og irritation af luftvejene. Af kroniske helbredsskader kan nævnes lungekræft, hjerte-karsygdomme samt sygdomme i luftvejene. Effekterne af passiv rygning er stort set de samme, som ses ved rygning, idet der dog er tale om mindre risiko, idet niveauerne af de toksiske stoffer typisk er 20-200 gange mindre end ved direkte inhalering af røgen.

Graden af udsættelse for passiv rygning på arbejdspladsen kan vurderes ud fra selvrapportering. Der er dog en stor risiko for bias, dels i vurderingen af omfanget af den passive rygning, dels i rapportering af egne rygevaner. Et andet problem er at kvantificere eksponeringen ud fra egenrapportering. Biologisk monitorering kan bruges til at vurdere passiv rygning ved måling af metabolitter af nikotin, fx kotinin, i plasma eller urin. Kotinin foretrækkes som regel frem for nikotin pga den længere biologiske halveringstid (ca 20 timer). Måling af tobaksspecifikke hæmoglobinaddukter, bl.a. af amino-biphenylforbindelser og nitrosaminer, vil måske være fremtidens biomarkører, idet samtidig måling af disse muligvis kan bruges til at skelne mellem rygere, passive rygere, brugere af snus og ikke-rygere.

Markører for allergifremkaldende påvirkning

Allergi er en immunologisk reaktion, hvor kroppens immunforsvar reagerer uhensigtsmæssigt på fremmede stoffer (allergener). Man kan skelne mellem to typer af allergi: antistof-medieret allergi og celle-medieret allergi, afhængigt af kroppens reaktion på det pågældende allergen. Typiske eksempler på antistof-medieret allergi er høfeber, fødevareallergi og astma, mens kontaktallergier, såsom nikkel- og chromatalergi, er celle-medierede. Nogle stoffer, fx latex, toluen diisocyanat og trimellitic anhydrid, kan fremkalde både antistof-medierede og celle-medierede allergier. Proteiner forekommer ofte som allergener, og i latex er der således identificeret antistof-fremkaldende proteiner. Disse findes i såvel rågummi som i slutproduktet. Desuden tilsættes flere kemiske forbindelser under latexproduktionen, hvoraf adskillige kan fremkalde celle-medieret allergi.

I princippet kan forskellige allergener anvendes som eksponeringsmarkører. Der er dog visse problemer. Allergi kan opstå efter gentagen eksponering af meget lave koncentrationer af allergen, hvilket betyder, at der kræves meget følsomme metoder for at kunne måle en eksponering. Et andet problem kan være at identificere det eller de specifikke allergener. Endvidere spiller den personlige følsomhed en rolle, idet nogle personer kan udvikle en allergi over for fx nikkel, mens andre ikke gør det under de samme omstændigheder.

Forekomsten af specifikke antistoffer af IgE-typen i plasma kan anvendes som markører for effekt i tilfældet med antistof-medieret allergi. Man skal dog være opmærksom på, at antistoffer kan være meget specifikke, således at man kan have antistoffer mod allergener fra én kat, selvom man ikke reagerer på generelle katte-allergener. Tilstedeværelsen af specifikke IgE-antistoffer er et nødvendigt, men ikke tilstrækkeligt kriterium ved diagnose af fx allergisk astma eller høfeber, idet også ikke-allergiske personer kan have specifikke IgE-antistoffer.

Man kan bruge deling af lymfocytter som markør for effekt i tilfældet med celle-medieret allergi. Lymfocytter isoleres fra blod, og celledeling måles efter stimulering med relevant(e) allergen(er). Hverken dette lymfocyt proliferationsassay eller andre metoder, fx baseret på målingen af kemiske signalstoffer mellem immunsystemets celler (cytokiner), anvendes i dag rutinemæssigt til klinisk undersøgelse.

Prøvetagning

Prøvemateriale

Som prøvemateriale anvendes ved biologisk monitoring oftest blod (fuldblod, serum eller plasma) eller urin. Organiske opløsningsmidler kan med fordel måles i udåndingsluft. Svyt, sved, hår og negle har ligeledes været anvendt til biologisk monitoring. Valg af medie afhænger af faktorer som stoffers kinetik (halveringstid), og hvilke muligheder der er for prøveindsamling, herunder risiko for kontaminering.

Blod

Via blodet transporteres og fordeles stofferne i kroppen. Derfor kan man næsten altid finde aktive stoffer og deres metabolitter i blod. I blod kan de fleste uorganiske stoffer, heriblandt metaller, måles. Organiske stoffer med ikke alt for kort halveringstid kan ligeledes måles. Det kan være en fordel at måle selve stoffet i blodet, da det er langt mere specifikt end at måle metabolitter i urin. I blod kan også måles de stoffer, som bindes til makromolekyler som hæmoglobin. Hvis stoffet skal måles i fuldblod eller plasma, skal der anvendes et passende antikoagulum, hvilket giver en risiko for kontaminering. Ved transport og opbevaring sker der hæmolyse (sprængning) af de røde blodceller, hvilket kan give fejlagtige resultater, hvis der skal måles på plasma. Det

er vigtigt at tage stilling til, om stoffet skal måles i fuldblod, blodceller, plasma eller serum. Fx ved eksponering for hexavalent chrom, Cr(VI), som er kræftfremkaldende, kan måling af chrom i blodceller være et mål for Cr(VI), mens måling af chrom i serum er et mål for Cr(III). Måling af chrom i fuldblod giver et mål for Cr(III) + Cr(VI). Nogle stoffer kan transporteres i blodet frit eller bundet til proteiner, hvilket analysemetoden om muligt bør tage højde for (fx er metallerne Mn, Pb, Ni og Cr bundet til forskellige proteiner).

Blodprøver angiver i reglen det aktuelle udtryk for balancen mellem optagelse, deponering, frigivelse fra depoter og udskillelse og for nogle stoffer også metabolisme. I nogle tilfælde sker ændringerne meget hurtigt, som fx for visse opløsningsmidler, der derfor ikke er særlig velegnede at måle i blod, da niveauet er et øjebliksbillede.

Urin

Ved undersøgelser af arbejdsmiljøpåvirkninger anvendes hyppigt urinprøver. Prøvematerialet findes i rigelig mængde og er let at opsamle (non-invasivt), men der er en risiko for kontaminering. Det er et velegnet medie for måling af vandopløselige metabolitter af organiske kemikalier og adskillige uorganiske metaller. Som hovedregel gælder, at for stoffer med kort halveringstid, eller hvor der er tale om fluktuerede luftbårne koncentrationer, er metabolitter målt i urin opsamlet i slutningen af en arbejdsperiode et bedre mål for den gennemsnitlige eksponering end måling af selve stoffet i blod eller udåndingsluft. En 24-timers urinprøve giver et bedre mål for gennemsnitseksposeringen end en spot-urinprøve, men 24-timers urinprøver er ikke egnede for rutinemæssig biologisk monitorering. Variation i væskeindtagelse og væsketab, fx ved varmt arbejde, hvor der afgives en del væske via sveden, giver ret store variationer i urinkoncentrationen. For at korrigere for denne koncentration eller fortyndingseffekt kan måleresultater korrigeres med urinens kreatininkoncentration eller densitet. En anden mulighed er at korrigere ved anvendelse af legemsvægt.

Udåndingsluft

Måling af stoffer i udåndingsluft (alveolar luft) anvendes især ved eksponering for flygtige organiske forbindelser (VOC'er). Metoden er non-invasiv, men der er stor risiko for kontaminering, og koncentrationen af VOC'er i udåndingsluft fluktuerer med eksponeringsintensiteten. Prøvetagningstidspunktet er meget kritisk og afgørende for, om koncentrationen afspejler nylig eksponering (prøven opsamlet i slutningen af en arbejdsperiode) eller eksponering den forudgående dag (prøven opsamlet 15 timer

efter arbejdsophør). Flere faktorer påvirker koncentration i alveolar luft, bl.a. stoffets opløselighed, idet der for stoffer med lav opløselighed i blod ses høje koncentrationer.

Andre biologiske medier

Analyse af mælk eller fedtvæv har været målt for dels at vurdere fedtopløselige stoffers kropsbelastning (fx phosphorholdige pesticider), og dels for at vurdere, om nyfødte har en risiko for eksponering for toksiske stoffer. Udskillelse af stoffer i fæces afspejler den orale eksponering og har ingen praktisk interesse i relation til arbejdsmiljøeksponering. Ekstern kontaminering er en alvorlig fejlkilde ved måling af stoffer i hår, idet der ikke findes standardiserede vaskeprocedurer. Nogle stoffer udskilles i sved og spyt, men også her er der metodemæssige problemer, som gør disse medier uegnede til rutinemæssig biologisk monitorering. Der findes i dag teknikker til måling af bly i benvæv og cadmium i nyre og lever, men disse metoder anvendes fortrinsvis forskningsmæssigt.

Prøvetagningsstrategi

Toksiske stoffer, der hurtigt forsvinder fra blodet, er kun egnede til at blive målt i blod, såfremt prøvetagningstidspunktet standardiseres. For opløsningsmidler bør prøven således tages 30 min. efter arbejdsophør i slutningen af en arbejdsperiode. Måling af metabolitter i en urinprøve vil i de fleste tilfælde være mere velegnet, idet de kan være udtryk for såvel den aktuelle som den længerevarende eksponering, men også i de tilfælde, hvor halveringstiden er < 20 timer, bør der fastlægges en standardiseret prøvetagningsstrategi og endvidere måles på flere prøver (2-5 prøver).

Andre faktorer, der hyppigst giver anledning til fejlagtige analyseresultater, er forurening ved prøveindsamling, dvs omgivelser og prøvetagningsglas, fordampning (organiske opløsningsmidler og metallisk kviksølv), kemisk omdannelse samt bakterievækst i urinprøver. Forurening er den største fejlkilde ved analyse af visse metaller, fx nikkel, chrom og cadmium. Forurening kan opstå fra luften på arbejdspladser, fra hud og sved, prøvebeholdere og antikoagulans. Risikoen for forurening fra hud, tøj og hår samt luften på arbejdspladsen er særlig stor ved opsamling af urinprøver. Udfældning og adsorption er et stort problem ved indsamling og opbevaring af urinprøver. Visse metalioner, fx aluminium, adsorberes til forskellige glastyper og plast, og derfor er det vigtigt at anvende de prøvetagningsglas, som laboratoriet anbefaler.

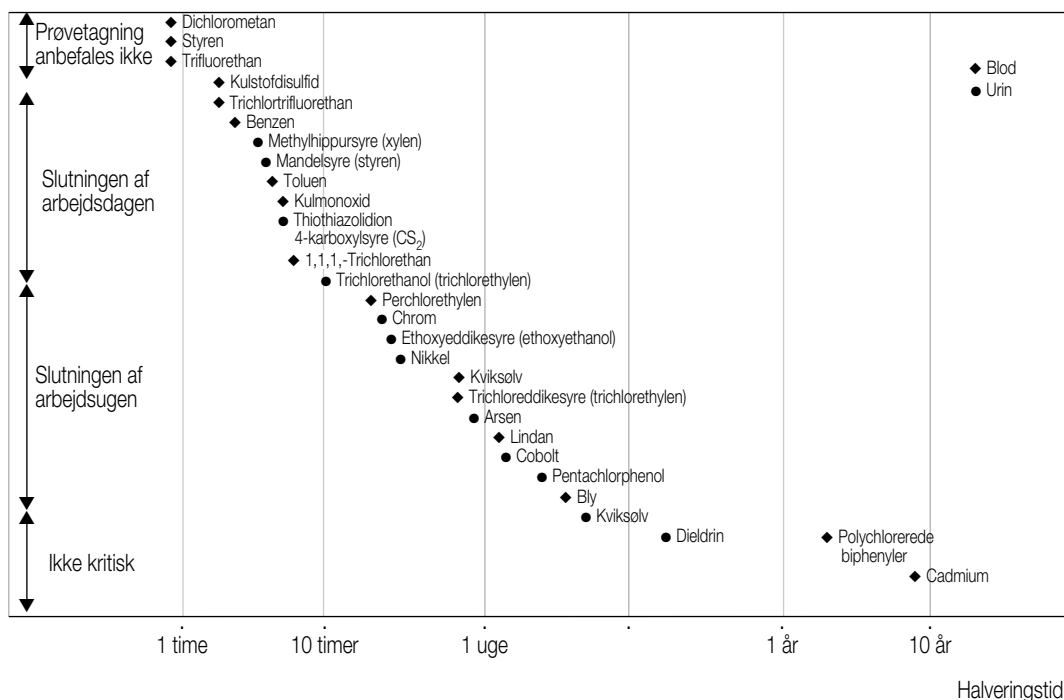
Prøvetagningstidspunkt

Mængden af et stof målt i en kropsvæske er resultatet af et samspil mellem absorption, biotransformation, ophobning og udskillelse. Disse processer afhænger af endogene faktorer som genetik, antropologi og sundhedstilstand, og ydre faktorer som arbejdsbelastning, samtidig eksponering for flere stoffer, medicinindtagelse, alkohol- og rygevaner. Det er nødvendigt at have kendskab til disse faktorer for at kunne vælge de korrekte biomarkører, det biologiske medie, prøvetagningstidspunkt og for at kunne tolke data.

Den biologiske halveringstid for et stof i et organ, et væv eller kroppen som helhed er den tid, der er nødvendig for at halvere koncentrationen af stoffet. Nogle stoffer kan have flere halveringstider svarende til eliminationen fra forskellige organer eller væv (kompartments), men generelt er der en dominerende halveringstid. For stoffer med lang biologisk halveringstid i de forskellige kompartments er prøvetagningstidspunkt ikke kritisk. Nogle stoffer akkumuleres gennem en arbejdsuge. For andre stoffer, som hurtigt udskilles af kroppen, kan prøvetagningstidspunktet være mere kritisk. Sammenhæng mellem halveringstiden

Figur 6.3. Sammenhæng mellem et stofs halveringstid i blod og urin og prøvetagningstidspunkt.

Prøvetagnings-
tidspunkt



for udvalgte stoffer i blod og urin og prøvetagningsstrategi er vist i fig. 6.3.

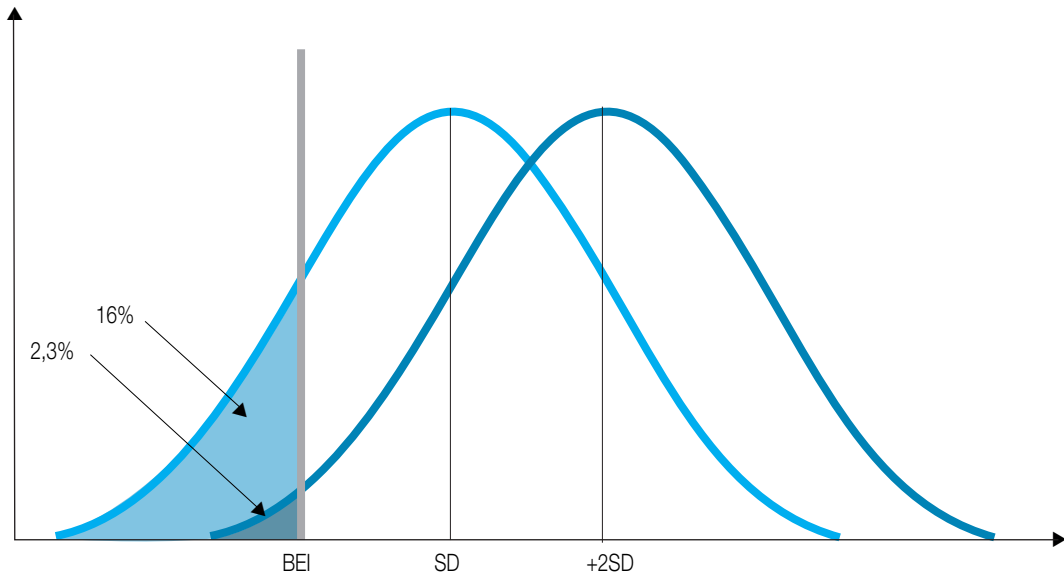
Kendskab til kinetik og halveringstid er også vigtigt ved tolkningen af, hvor repræsentativ prøvetagning er, idet eksponeringen i løbet af en arbejdsperiode sjældent er konstant. Det er vigtigt at vide, om en komponent reflekterer eksponering, lige før prøven blev taget (nylig eksponering), tidsvægtet eksponering den foregående dag eller dage, langtidseksponering eller integreret eksponering. Fx afspejler koncentrationen af n-hexan i udåndingsluft (kort halveringstid) eksponeringen kort tid før prøvetagningen. Mængden af kobolt i urin reflekterer eksponering for koboltforbindelser den forudgående arbejdsuge.

Analysemetoder

For at kunne udføre biologisk monitorering bør analysemetoderne være følsomme, specifikke, reproducerbare og anvendelige. For at måleresultatet skal kunne sammenlignes, stilles der store krav til analysemetoden. Biologiske analysemetoder bør være specifikke, dvs kun måle den ønskede komponent uden interferens (medbestemmelse af andre stoffer). Ved analyse af nikkel i blod kan fx jern medbestemmes. Udviklingen inden for analytisk kemi har i de senere år været meget stor. Med måleudstyr som atomabsorption, gaskromatografi, højtryksvæskechromatografi og ionkromatografi er det muligt at vælge specifikke metoder.

En analysemetode bør ligeledes have tilstrækkelig præcision og nøjagtighed, dvs måle det samme hver gang med en givet standard deviation nær den sande værdi. Nøjagtige målinger er vigtigt, når et måleresultat sammenlignes med en biologisk grænseværdi, hvor der tages stilling til, om denne er overskredet, og når der skal sammenlignes med et måleresultat udført af et andet laboratorium.

I fig. 6.4 er % falske negative fund pga målefejl illustreret. Et måleresultat, der er over den biologiske grænseværdi (BEI) kan pga målingers variation (SD) fejlagtigt blive bedømt som værende under grænseværdien. For hvis måleresultater er 2SD over den biologiske grænseværdi, vil 2,3% af måleresultaterne vurderes som værende under grænseværdien. Dette betyder, at arbejdsmiljøet ikke forbedres, og arbejdstageren falder ud af måleprogrammet (ingen forebyggelse). Derfor er det vigtigt, at et laboratorium dokumenterer analysemetodens ydeevne ved en metodevalidering og løbende brug af kvalitetskontrol samt certificeret referencemateriale for at sikre sporbarhed (nøjagtighed).



Figur 6.4. Falske negative måleresultater.

Deltagelse i præstationsprøvninger (ekstern kvalitetskontrol) og sammenligninger med et referencelaboratorium er desuden et krav til et akkrediteret (godkendt) laboratorium.

Tolkning af data

Selvom der i populationsundersøgelser er fundet korrelation mellem den målte biomarkør og eksponering, er det nødvendigt at vurdere variationskilder. Det gælder individuel variation og eksponering fra andre ikke-arbejdsræssige kilder, fx findes mange sporelementer i miljøet (cadmium i tobaksrøg, arsen i fisk), og denne eksponering kan i nogle tilfælde overstige en arbejdsræssig eksponering.

Resultater opnået ved biologisk monitorering tolkes sædvanligvis ved at sammenligne med referencegrænser. Der findes to slags referencegrænser: 1) referenceintervaller fra ikke-erhvervsræssigt eksponerede befolkningsgrupper, og 2) biologiske grænseværdier for eksponerede arbejdstagere.

Samfundsmæssig variation

Toksiske stoffer i legemsvæsker behøver ikke nødvendigvis at

komme fra en arbejdsmæssig eksponering. Føde, livsvaner og fritidsaktiviteter kan give væsentlige bidrag. Ud fra et sundhedsmæssigt synspunkt er det den totale eksponering, der har interesse. Fra føden fås bidrag som visse tungmetaller, pesticider etc. Koncentrationen af arsen i urin hænger direkte sammen med koncentrationen af arsen i drikkevand, og fisk indeholder organiske arsenforbindelser. Fisk kan ligeledes indeholde ekstreme mængder af methylkviksølv. Føden kan indeholde varierende mængder af kemikalier, der omdannes til phenol, hippursyre og mandelsyre, metabolitter som også er et mål for benzen-, toluen- og styreneksponering. Rygning giver et ikke uvæsentligt tilskud af cadmium og kulilte og øger optagelsen af bly hos arbejdere eksponeret for bly.

Personer, der jævnligt drikker alkohol, har sædvanligvis en forhøjet koncentration af bly i blod. Ydermere hæmmer alkohol også metabolismen af visse organiske stoffer (fx trichlorethylen og phenylethan-1,2-diol) og interfererer med metabolismen af xylene. Mange organiske stoffer, DDT, PCB og medikamenter påvirker organismens evne til at omsætte toksiske stoffer.

Biologiske referenceværdier

For at man kan tolke resultater, må der foreligge et sammenligningsgrundlag ud fra en referenceværdi eller referenceinterval.

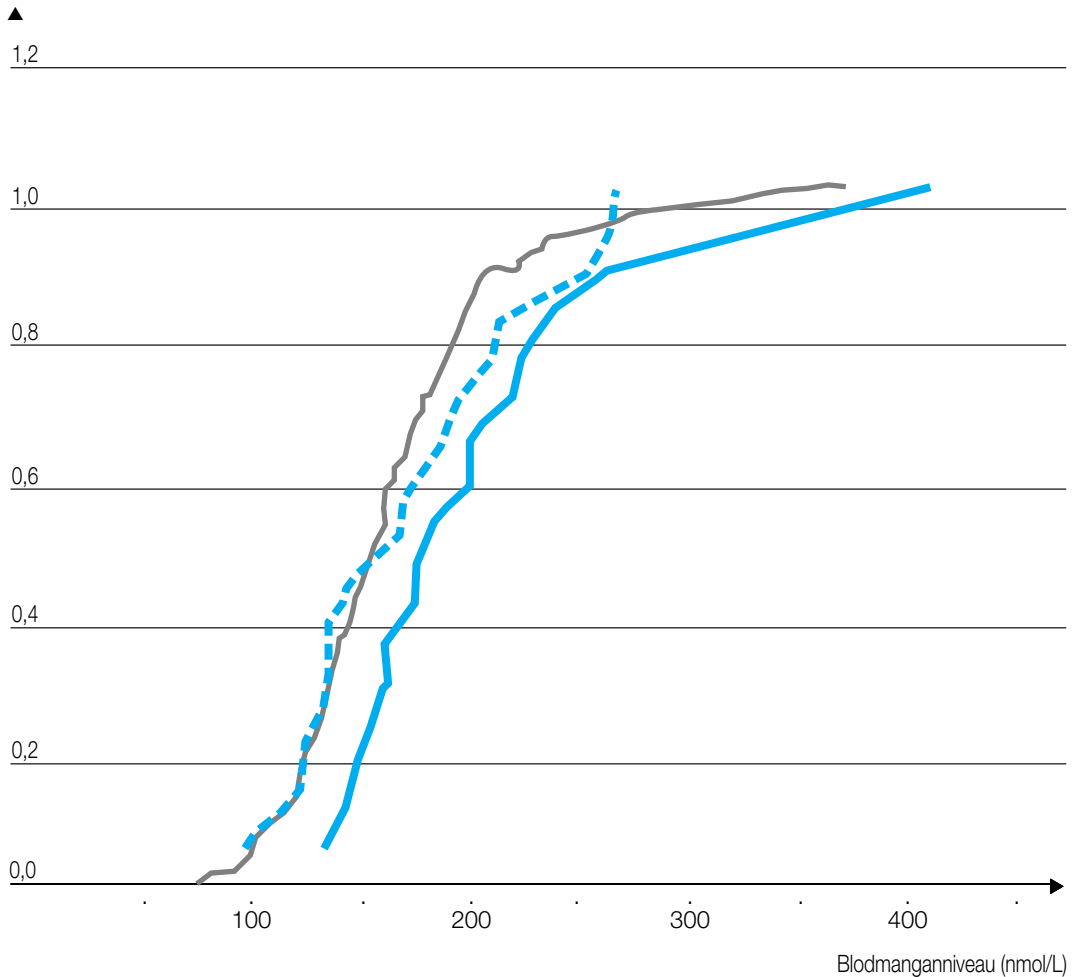
Ved en biologisk referenceværdi forstås koncentrationen af stoffet eller dets metabolitter i en population uden kendt erhvervmæssig eksponering. Referenceintervaller for ikke-erhvervmæssigt eksponerede befolkningsgrupper er fastlagt på baggrund af måleresultater (referenceværdier, hvor målinger fra erhvervmæssigt eksponerede er udeladt) for en passende stor og veldefineret befolkningsgruppe (referencegruppe) med kendt etnisk oprindelse, køn, alder, miljømæssig påvirkning, luftforurening, rygning, andre sociale vaner etc. Referenceintervallets nedre grænse er hyppigt nær den analytiske detektionsgrænse og derfor behæftet med stor måleusikkerhed. Personer, som har fået målt koncentrationer højere end den øvre referencegrænse, bliver anset for at være arbejdsmæssigt eksponerede.

For at karakterisere eksponeringen af grupper frem for individer er det ikke tilstrækkeligt at sammenligne med den øvre referencegrænse og dens givne sikkerhedsgrænse. I stedet bør fordelingen af de biologiske måleresultater for den eksponerede gruppe sammenholdes med fordelingen for referencegruppen. Såfremt gruppen i gennemsnit har et niveau, som er større end halvdelen af den øvre referencegrænse, er gruppen sandsynligvis blevet eksponeret på arbejdspladsen. I fig. 6.5 er dette illustreret

Figur 6.5. Manganeksponering i et jernstøberi. Fordelingen af blodmangan målt før og efter ferie.

ved manganeksponering i et jernstøberi. Fordelingen af blodmangan, målt før og efter ferie, er sammenholdt med fordelingen af referenceværdier.

Kumuleret hyppighed



- Jernstøberi, før ferie ($p < 0,01$)
- - - Jernstøberi, efter ferie ($p < 0,005$)
- Referencegruppe

Øvre referencegrænser kan variere fra det ene geografiske område til det andet. Endvidere kan niveauet ændres med tiden, som fx i det sidste årti, hvor koncentrationer af bly i blod og kviksølv i urin er faldende. Ydermere er det kendt, at rygning kan påvirke niveauet af en række stoffer i kropsvæsker, som fx cadmium og benzen. Endelig skal understreges, at valide referencegrænser kun opnås ved anvendelse af korrekt statistik.

Biologiske grænseværdier

I de senere år har man fastsat biologiske grænseværdier, der skal sikre mod sundhedsskadelig påvirkning ved eksponeringer i arbejdsmiljøet. Ved en biologisk grænseværdi forstås den maksimale koncentration af stoffet og/eller dets metabolitter, der kan accepteres i det biologiske medie. Ideelt bør biologiske grænseværdier være den højeste koncentration af et stof og/eller dets metabolitter, der ikke anses for skadelig. Denne værdi kan fastlægges ud fra dosis-effekt relationer. Pga det store arbejde, det kræver at erhverve viden om sammenhængen mellem dosis og respons, findes meget få biologiske grænseværdier baseret på dosis-effekt relationer, dog har WHO udarbejdet værdier for bly, cadmium og kviksølv.

Derimod findes der flere matematisk tilnærmede grænseværdier for stoffer i biologiske medier, ofte fastlagt ud fra den fastsatte grænseværdi i luft og korrelation mellem koncentrationen i luft og fx urin. I USA anvendes betegnelsen BEI, Biological Exposure Indices, der udarbejdes af ACGIH (the American Conference of Governmental Industrial Hygienists). BEI-værdien er den koncentration, som kan forventes i blod eller urin hos en arbejdstager, der har arbejdet i et moderat arbejdstempo 8 timer ved den gældende grænseværdi for stoffet. Det skal understreges, at BEI-værdierne angiver en påvirkning, hvor der ikke er taget hensyn til sundhedsrisiko.

I Vesttyskland anvendes betegnelse BAT, Biologische Arbeitsstoff-Toleranz Werte, udarbejdet af Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe (DFA), som fastsætter grænseværdier på baggrund af langtidsstudier af arbejdstagere, der er eksponerede 8 timer om dagen, 5 dage pr uge, uden at der i dette tidsrum er konstateret skadelige påvirkninger på helbredet. Veldokumenterede biologiske grænseværdier findes på nuværende tidspunkt for bly, cadmium, kviksølv og carbonmonoxid i blod samt aluminium, cadmium, fluorid og kviksølv i urin samt et stort antal VOC'er. For kræftfremkaldende stoffer findes ikke BAT-værdier, men "Expositionsäquivalente für krebserzeugende Arbeitsstoffe" (EKA), dvs værdier, som svarer til intern dosis ved gældende tysk grænseværdi i luft.

Biologiske grænseværdier skal bruges med omtanke, idet stoffers reaktivitet og opløselighed har stor betydning; fx ved eksponering for vandopløselige nikkelforbindelser vil nikkellkoncentrationer i urin være langt højere sammenlignet med en eksponering for praktisk talt uopløselige nikkelloxider, sulfider og metallisk nikkel, og tilsvarende for cobolt og chrom. For visse stoffer, som let absorberes gennem huden, kan den biologiske grænseværdi ikke afledes af grænseværdier i luft alene. I disse tilfælde

Tabel 6.3. Udvalgte biologiske grænseværdier anbefalet af den amerikanske grænseværdikomite (BEI-værdier), den tyske grænseværdikomite (BAT-værdier) samt tyske vejledende EKA-værdier for kræftfremkaldende stoffer.

Biologisk monitoringsmetode	Prøvetagning	BEI	BAT	EKA
Acetone				
Acetone i urin	ES	100 mg/L	80 mg/L	
Aluminium				
Aluminium i urin	ES		200 µg/L	
Arsen				
Uorganiske arsenmetabolitter i urin	ES, EW	50 µg/g kreat		130 µg/L
Benzen				
Phenylmercaptursyre i urin	ES	25 µg/g kreat		45 µg/g kreat
Muconsyre i urin	ES			2 mg/L
Benzen i blod	DS			5 µg/L
Bly				
Bly i blod	NC	300 µg/L	700 µg/L	
Bly i blod*	NC		300 µg/L	
δ-aminolævulinsyre i urin	NC		15 mg/L	
Cadmium				
Cadmium i urin	NC	5 µg/g kreat	15 µg/L	
Cadmium i blod	NC	5 µg/L	15 µg/L	
Chrom (VI) opløselig				
Chrom i urin	IDS	10 µg/g kreat		
Chrom i urin, total	ES, EW	30 µg/g kreat	20 µg/g kreat	
Fluorid				
Fluorid i urin	PS	3 mg/g kreat	4 mg/g kreat	
Fluorid i urin	ES	10 mg/g kreat	7 mg/g kreat	
n-Hexan				
2,5 hexandion i urin	ES	5 mg/g kreat	5 mg/L	
Cobolt				
Cobolt i urin	ES, EW	15 µg/L		60 µg/L
Cobolt i blod	EW	1 µg/L		5 µg/L
Kulmonoxid				
Kulmonoxid Hb i blod	ES	3,5%	5%	
Kviksølv uorganisk				
Kviksølv i urin	PS, NF	35 µg/g kreat	200 µg/L	
Kviksølv i urin	ES, EW			
Kviksølv i blod	ES, EW	15 µg/L	50 µg/L	
Kviksølv organisk				
Kviksølv i blod	NF		100 µg/L	
Methanol				
Methanol i urin	ES, EW	15 mg/L kreat	30 mg/L	

* Kvinder < 45 år; kreat = kreatinin;
 ES = slutningen af arbejdsdagen;
 EW = slutningen af arbejdsugen;
 NC = ikke kritisk; PS = starten af en arbejdsperiode; DS = i løbet af arbejdsdagen; IDS = øges under arbejdet;
 NF = ikke fastlagt

Biologisk monitoringsmetode	Prøvetagning	BEI	BAT	EKA
Nikkel				
Nikkel i urin	EW			45 µg/L
Nitrobenzen				
p-nitrophenol i urin	ES, EW	5 mg/g kreat		
Methæmoglobin i blod	ES	1,5%		
Anilin Hb-addukter i blod	EW		100 µg/L	
Styren				
Mandelsyre i urin	ES, PS	800 mg/g kreat	400 mg/g kreat	
Phenylglyoxylsyre i urin	ES, PS	300 mg/g kreat		
Mandelsyre + phenylglyoxylsyre i urin	ES		500 mg/L	
Styren i blod	ES	0,55 µg/L		
Styren i blod	PS	0,02 µg/L		
Tetrachlorethylen				
Trichloreddikesyre i urin	ES, EW	3,5 mg/L		
Tetrachlorethylen i blod	PS	0,5 mg/L	1 mg/L	
Toluen				
Hippursyre i urin	ES	2,5 g/g kreat		
o-cresol i urin	EW	1 mg/g kreat	3,0 mg/L	
Toluen i blod	ES	1 mg/L	1 mg/L	
Trichlorethylen				
Trichloreddikesyre i urin	EW	100 mg/g kreat	100 mg/L	
Trichlorethanol i urin	ES, EW	10 µg/g kreat		
Vanadium				
Vanadium i urin		70 µg/g kreat		

fastlægges grænseværdien ved at måle stof- og metabolitkoncentrationer i biologiske prøver fra arbejdstagere, der har udvist god arbejdspraksis.

I Danmark er der fastlagt en grænseværdi for bly i blod på 200 µg/L, og grænseværdier for andre toksiske stoffer vil måske følge efter, idet der i et kommende EU-Direktiv er stillet krav om biologisk monitoring og fastsættelse af biologiske grænseværdier for flere stoffer, fortrinsvis metaller. Ved fastsættelse af nationale biologiske grænseværdier har tekniske og økonomiske konsekvenser en indflydelse på fastsættelse af niveauet. BEI, BAT, EKA og EU biologiske grænseværdier, der administrativt benyttes i flere lande, er derfor højere end grænseværdier foreslået af WHO. Værdier for BEI, BAT og EKA er vist i tabel 6.3.

Modellering

Biomarkører er i de fleste tilfælde ikke selektive for eksponeringen, fx afspejler bly i blod ikke alene bly fra arbejdsmiljøet, men også bly fra fødeindtagelse og livsvaner.

Klassisk univariat statistik opfordrer til at anvende én selektiv biomarkør. Dette betyder, at man på forhånd må udvælge sin variabel og derved mister værdifuld information fra andre ikke-selektive variable, idet disse i kombination kan være selektive over for givne karakteristika. I de seneste år har kemometrien, der kan tackle multivariate datastrukturer på en matematisk hensigtsmæssig måde, vundet stor udbredelse. Ved at anvende kemometriske metoder kan flere biomarkører håndteres samtidig med information fra spørgeskemaer.

Inden for kemometrien findes to væsentlige metoder til denne form for dataanalyse. Principal Component Analyse (PCA) og Partial Least Squares regression (PLS). Med PCA, "mønstergenkendelse" eller "fingerprints", er det muligt at finde sammenhænge i og overblik over store datamængder. Disse sammenhænge kan efterfølgende eftervises med klassisk statistik. PLS er en metode, der anvendes til at korrelere to datamatricer X og Y. X-matricen indeholder de uafhængige variable, fx biomarkører og spørgeskemadata, mens Y-matricen indeholder de afhængige variable, fx stressniveau eller sygdomsrisiko. Med denne information udvikles en prædiktiv model, som fx skal forudsige en given persons sygdomsrisiko/stressniveau alene ud fra målte biomarkører. Som det gælder for alle andre modeller, er det nødvendigt at validere og løbende forbedre en sådan model, før den anvendes. I øjeblikket anvendes kemometri fortrinsvis til forskningsformål mhp udvikling af valide modeller. Et praktisk islæt er, at man kan udvælge, hvilke biomarkører der er de væsentligste, hvorved antallet af målinger reduceres.

Anvendelsesmuligheder

Måling af bly i blod anvendes rutinemæssigt som overvågningsredskab, idet der via lovgivningen er fastlagt grænser for denne komponent. For andre biologiske måleparametre findes ikke danske grænseværdier, og det gør det sværere at anvende biologisk monitorering som redskab: Hvilke grænser skal måleresultatet vurderes over for, og hvilke konsekvenser vil man tage, hvis grænsen overskrides? Disse overvejelser må gøres, inden biologisk monitorering anvendes. Når dette er sagt, kan biologisk monitorering støtte eller supplere luftmålinger eller andre observationer

gjort på arbejdspladsen. Dette kan belyses med et par eksempler:

Manganeksponering på jernstøberier

Nyere undersøgelser publiceret i internationale medicinske tidsskrifter har dokumenteret øget forekomst af klager og neurologiske forandringer hos erhvervsgrupper eksponerede for lave koncentrationer af mangan, heriblandt støberiarbejdere. På den baggrund blev igangsat en undersøgelse af manganeksponeringen på tre støberier med deltagelse af i alt 24 personer. Orienterende stationære luftmålinger indikerede manganniveauer 40-500 gange under grænseværdien (2,5 mg/m³). Biologiske målinger af blodmangan viste klart forhøjede niveauer på to af støberierne i forhold til en referencegruppe, som vist i fig. 6.5. Et fald i blodmanganniveauet efter 3 ugers sommerferie dokumenterede, at det forhøjede niveau var erhvervsbetinget. Procesventilation ved støbeovnen førte ligeledes til markant forbedring, som blev afspejlet i blodmanganniveauerne. Ved undersøgelsens start havde to af de ansatte muligvis kliniske symptomer på manganforgiftning. Symptomerne forsvandt, da deres blodmanganniveauer blev bragt ned.

Konklusionen fra denne undersøgelse var, dels at luftmålinger skal fortolkes med forsigtighed, dels at manganeksponeringen primært skyldtes utilstrækkelig procesventilation, især ved omhældningsprocessen. Særlig den sidste konklusion danner basis for yderligere tekniske forbedringer af arbejdsmiljøet.

Apoteksassistenteres omgang med cytostatika som cisplatin

Der er usikkerhed om, hvorvidt de arbejdsprocedurer, der anvendes ved apoteksassistenteres håndtering af cytostatika, er så sikre, at de beskytter mod skadevirkninger. Arbejdsprocedurerne skal være tilrettelagt således, at der slet ikke er kontakt, dvs der skal arbejdes med handsker, og stofferne skal håndteres i stinkskab eller flowbænk, hvor såvel person som præparat beskyttes. Der må ikke blæse luft ud i hovedet på personen (såkaldt horisontalt flow). Men er de anvendte arbejdsprocedurer sikre nok? Her kan måling for stoffet eller omdannelsesprodukter i kroppen (blod eller urin), intern dosis eller en uspecifik effekt (fx mutagen aktivitet i urin), være relevant. Måling af biologisk effektiv dosis, som giver et mere præcist mål for skadelig udsættelse, er mulig, såfremt cytostatika binder sig til fx DNA. Det er bl.a. muligt at måle cisplatin DNA-addukter. Metoderne er imidlertid ikke særlig veludviklede og meget dyre, da de stadig er på forskning/udviklingsstadiet. Måling af tidlige biologiske effekter, som fx skader på arveanlæg (såkaldte kromosomanalyser) er uspecifik, og derfor kun velegnet ved høj eksponering.

Der findes eksempler på succesfuld anvendelse af alle typer i stærkt belastede arbejdssituationer. Men i dag er det nok tvivlsomt, om metoderne er tilstrækkelig følsomme til at kunne detektere cytostatika eller metabolitter, og risikoen for at få falske negative resultater bør indgå i overvejelserne, før der tages beslutning om monitorering.

Metaleksponering på kraftværk

Flyveasken på et kraftværk havde højt indhold af nikkel og vanadium. Nikkel er et carcinogen og kan derudover forårsage kontaktallergi og luftvejsallergi. Vanadium er slimhindeirriterende og kan ved længere tids eksponering give anledning til rhinitis (høfeber) og kronisk bronkitis. Virksomheden havde investeret store beløb i teknisk forebyggelse af eksponering samt rengøring af "forurenede" områder. Da der opstod et tilfælde af nikkel-kontaktallergi, opstod der mistanke om, at de forebyggende foranstaltninger var utilstrækkelige. For at belyse mulig nikkel- og vanadiumeksponering blev urinprøver taget fra 7 personer beskæftiget med granulering eller transport af flyveaske. Personerne udfyldte derudover hver et kort spørgeskema, der belyste andre kilder til metaleksponering, fx fritidsbeskæftigelse og kostvaner. Ingen af personerne havde forhøjede nikkel- eller vanadiumniveauer sammenlignet med referenceniveauer. Konklusionen blev, at beskyttelsesforanstaltninger, bedømt ud fra nikkel- og vanadiumniveauerne i urin, var tilstrækkelige.

Eksemplerne viser, at der er problemstillinger i arbejdsmiljøet, som kan belyses vha biologisk monitorering på trods af manglen på grænseværdier. Før et biomonitoringsprogram igangsættes, bør man dog konsultere fagfolk for at sikre et økonomisk og fortolkningsmæssigt overskueligt undersøgelsesdesign. Dette indebærer bl.a. korrekt valg af biomarkør og prøvetagningstidspunkt, sikring af etiske hensyn (fortrolighed, registergodkendelser mv), samt at prøvetagning og kemisk analyse foregår under passende kvalitetssikring. Resultaterne bør fremlægges i rapportform, og rekvirenten af undersøgelsen bør have adgang til efterfølgende faglig bistand til fortolkning af måleresultaterne.

Etiske overvejelser

Det skal understreges, at biologisk monitorering og måling af biomarkører giver mulighed for at vurdere den interne belastning. Dette kan være af betydning i udredning af arbejdsmiljøeksponering og sygdomsbillede, fx i relation til arbejdsskade- og erstat-

nings-sager. Biologiske målinger må dog ikke erstatte den arbejdshygiejniske eksponeringskontrol, der er væsentlig for at opspore forureningskilder og forbedre arbejdsmiljøet. Anvendelse af biomarkører og biologisk monitorering indebærer en række forvaltningsmæssige og etiske problemer, der skal tages hensyn til ved både planlægning, udførelse og tolkning af resultaterne. En forudsætning for korrekt tolkning af resultater er faglig baggrund og viden samt nødvendige og tilstrækkelige analytiske faciliteter til at opnå meningsfulde resultater. Monitoringsprogrammer skal være forebyggende, og en arbejdstager må ikke placeres i en situation, hvor frygten for at miste sit arbejde sammenblandes med helbredsrisiko eller skadelige påvirkninger. Beslutningen om at acceptere et vist risikoniveau i relation til sikker ansættelse bør være et personligt anliggende.

Generelt gælder de læge-etiske regler, hvor personer, som deltager i monitoringsprogrammer, skal være informeret om undersøgelsens formål, de skal afgive skriftligt samtykke inden deltagelse, og de er frit stillet til at trække sig ud af programmet. Undtaget herfra er imidlertid måling af bly i blod, som er obligatorisk, idet der foreligger et EF-direktiv og en dansk bekendtgørelse, som omhandler regler for overvågning af personer, der i deres arbejde udsættes for uorganisk bly. Flere forslag om obligatoriske måleprogrammer i EU-regi er i planlægningsfasen.

Et væsentligt forvaltningsmæssigt problem er ejendomsretten til måleresultatet. Tilfalder måleresultatet undersøgelsespersonen, forskeren eller arbejdsgiveren? Når det drejer sig om forskningsprojekter, gælder, at kun forskerne og undersøgelsespersonerne har adgang til de individuelle analyseresultater, og de videregives ikke til uvedkommende uden den undersøgte accept. I den mere rutinemæssige overvågning af arbejdsmiljøet bør individuelle måleresultater ikke videregives til arbejdsgiveren, kun resultater opgjort på gruppebasis, fx fordelingen af måleresultater sammenholdt med en referencegruppe. Formaliserede regler herom vil kunne bidrage til at sikre, at personresultater behandles fortroligt, og at den enkelte undersøgelsesperson har en formel ret til at blive underrettet om resultatet af egne prøver.

Den mulige fortolkning og brug af biomarkører for genetisk risiko i arbejdsmedicin og klinisk medicin har givet anledning til betydelig kontroversiel debat, som også omfatter muligheden for diskrimination på grundlag af genotype. Adskillige svære spørgsmål må besvares i samfundsmæssig og sundhedsmæssig sammenhæng. Brugen af disse tests kan imidlertid sidestilles med almindeligt anvendte kliniske tests, fx bestemmelse af serumkolesterol, som også afspejler en genetisk betinget fænotype for hjerte-karsygdomme. Hvis genetisk undersøgelse bliver en realitet, kan der stilles mange etiske spørgsmål: Skal genetisk under-

søgelse overhovedet foregå i forbindelse med ansættelser - hvis ja, hvilke konsekvenser kan det så få? Hvem beslutter, hvem der skal indgå i et genetisk undersøgelsesprogram, og hvorledes informationen bruges, herunder hvem der skal have adgang til informationen - den enkelte, arbejdsgiveren, forsikringselskaberne? Hvordan kommunikeres resultaterne til de personer, der har været involveret?

Mange af spørgsmålene og deres svar er afhængige af de givne samfundsforhold og etiske værdier. Samfundet bliver nødt til at bestemme, om genetiske undersøgelser kan bruges legalt af forsikringselskaber og arbejdsgivere til at nægte at forsikre eller nægte muligheden for arbejde. Alternativt kan sådanne tests bruges til at sikre, at arbejdspladsen er sikker for alle, også de mest sårbare personer. Fremtidig brug af disse biomarkører i cancer-risikobestemmelse, parallelt med anvendelse af kolesterolmålinger i bedømmelse af risiko for hjerte-karsygdomme, er en væsentlig udfordring.

Grundlæggende må svarene på de mange etiske spørgsmål pege frem mod at forebygge sygdom og menneskelig lidelse, og at det bør ske efter individernes eget ønske.

Udviklingstendenser

I takt med øget viden om helbredseffekterne ved eksponering for visse stoffer nedsættes grænseværdier i luft. Dette sker for mangan, hvor epidemiologiske studier har vist, at manganeksponerede arbejdere havde subkliniske neurologiske symptomer ved meget lave mangankoncentrationer i luft. Som en konsekvens er grænseværdien for mangan i luft varslet nedsat fra 2,5 til 0,2 mg/m³. Som biologisk markør bruges hyppigst blodmangan for eksponering inden for de sidste par måneder, og urinmangan for eksponering inden for den sidste uge. Da studier har vist, at mangans passage over blod-hjerne barrieren er et vigtigt trin i den neurotoksiske mekanisme, søges der efter en mere specifik markør for denne proces.

For benzen er grænseværdien varslet nedsat fra 5 ppm til 0,1 ppm. Som biologisk markør er benzen selv kun anvendelig for luftkoncentrationer ned til ca 10 ppm. En langt mere følsom markør er metabolitten trans-muconsyre. Da benzin indeholder betragtelige mængder af benzen (flere %), kan den ændrede grænseværdi nødvendiggøre fornyede målinger i flere brancher.

Eksponering for pesticider diskuteres som et muligt miljøproblem, dvs eksponering gennem fødevarer, drikkevand osv. Ved

planteavl bruges mange forskellige pesticider, fx insekticider, fungicider og vækstreguleringsmidler. På friland bruges de største mængder, men den mest intense eksponering finder sandsynligvis sted i væksthushagartnerier med blomsterproduktion. Mange af pesticiderne er akut toksiske, især organophosphaterne og carbamaterne, og virker ved at hæmme acetylcholinesterasen. Mange af stofferne er fedtopløselige, og den primære optagelsesroute er huden, ikke lungerne.

Mange af stofferne er mistænkt for at være carcinogene og have fosterskadende effekt. Mange kan måles direkte i blod, serum eller fedtvævet, eller alternativt som metabolitter i urin. Et mere direkte mål for pesticidernes carcinogene og teratogene effekter er markører for deres effekt på DNA-niveau, der fx viser sig som kromosomforandringer, søster-kromatidudveksling, DNA-skader (COMET-assay) og DNA-reparationsaktivitet.

Udvikling af biomarkører for stress er et nyt område, hvor den klassiske opfattelse af biomarkører udvides til at omfatte ændringer af koncentrationen af naturligt forekommende (og biologisk nødvendige) stoffer. Kroppens regulering af hormoner betyder, at det er ganske små ændringer, der måles, hvilket stiller meget store kvalitetskrav til de anvendte målemetoder. Hormonerne indgår i flere forskellige fysiologiske processer, der påvirkes af mange forskellige eksponeringer i forskellig grad. Ved at måle ændringer af koncentrationer af flere hormoner kan effekter af eksponeringer på flere forskellige fysiologiske processer vurderes samtidigt. Det forventes, at anvendelse af multivariat statistik muliggør ekstraktion af relevante effekter relateret til specifikke påvirkninger. Her kan anvendelse af kemometriske metoder med fordel anvendes til tolkning af data indsamlet via spørgeskemaer og målte biomarkører.

Biomarkører for allergi er et nyt spændende område inden for arbejdsmedicin. Allergi er en kronisk irreversibel tilstand, og det vil være af stor værdi, hvis man kan bruge biomarkører til at udpege personer med risiko for at udvikle denne tilstand, før den opstår. Oplagte kandidater er dels de specifikke antistoffer, der er det første trin i kaskaden ved allergiske reaktioner, og dels cytokiner, der er uspecifikke signalstoffer mellem celler i den immunologiske reaktion.

I de senere år er man især blevet opmærksom på skader på gener, som kan føre til udvikling af kræft. Den hurtige udvikling inden for den molekylære genetiske teknik har bl.a. ført til identifikationen af gener, som medvirker til at regulere cellers vækst og udvikling (tumor suppressor gener og proto-onkogener). Hvis disse gener beskadiges, kan det resultere i, at der opstår kræftceller. Man forventer, at der fremover vil blive kortlagt en række andre gener, som kan have betydning for udvikling af kræft hos

mennesker. Dette rejser en række etiske spørgsmål om fortolkning, kommunikation og brug af den slags personlig information. Analysen af menneskets gener vil fx snart gøre det muligt at påvise andre gener, som hos i øvrigt sunde individer betinger en særlig følsomhed over for påvirkninger udefra.

Biomarkører udgør i sig selv et forskningsområde i hastig udvikling. Nye markører, som kan afsløre tidlige og mere specifikke påvirkninger, vil være af stor betydning i fremtiden, hvor udvikling og anvendelse af biomarkører vil være et vigtigt element i biologisk monitorering og epidemiologiske undersøgelser.

Litteratur

- Alexandersen P, Haarbo J, Christiansen C. The relationship of natural androgens to coronary heart disease in males. *Stheroscleroses* 1996;125:1-13.
- Aitio A. Biological monitoring today and tomorrow. *Scand J Work Environ Health* 1994;20 special issue:46-58.
- BAT. Maximum concentrations at the workplace and biological tolerance values 1996. Report No XXVI, Deutsche Forschungsgemeinschaft, VCH, Weinheim, Germany, 1997.
- BEI. Threshold limit values and biological exposure indices for 1996-1997. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Cincinnati USA, 1997.
- Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace, Volume 1, World Health Organisation, Geneva, 1996.
- Brewster MA, Hulka BS, Lavy TL. Biomarkers of pesticide exposure. *Rev Environ Contam Toxicol* 1992;128:17-42.
- Byrialsen K, Kristiansen J, Christensen JM. Trends in quality assurance of metal determinations in clinical chemistry. *Analyst* 1998;123:7-12.
- Christensen JM, Human Exposure to Toxic Metals. Factors influencing. Interpretation of Biomonitoring Results. *Sci Tot Environ* 1995;166:89-135.
- Council of the European Communities. Council directive of 27 November 1980 on the protection of workers from the risk related to exposure to chemicals, physical and biological agents at work (80/1107/EEC) *Off J Eur Communities* 1980;L 327:8-13.
- Duffus JH and Worth GJH (eds). *Fundamental Toxicology for Chemists*, The Royal Society of Chemistry, Athenaeum Press Ltd., Pickering, North Yorkshire, UK. 1996.
- Falter B, Kutzer C, Richter E. Biomonitoring of hemoglobin

- adduct: aromatic amines and tobacco-specific nitrosamines. *Clin Invest* 1994;72:364-71.
- Grandjean P, Nielsen GD, Jørgensen PJ, Hørder M. Reference intervals for trace elements in blood: significance of risk factors. *Scand J Clin Lab Invest* 1992;52:321-337.
- Heinzow B, Jessen H, Mohr S, Riemer D. Heavy metals in the general population: trend evaluation and interrelation with trace elements. In: Aitio A, Aro A, Järvisalo J, Vainio H (eds): *Trace elements in health and disease*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry 1991:75-81.
- Knudsen LE, Christensen JM, Poulsen OM. Biologisk måling i arbejdsmiljøundersøgelser. *Dansk kemi* 1990;12: 426-428.
- Knudsen, LE, Hansen ÅM. Måling af arbejdsmiljø. *Apoteksassistenten* 1996;12:10-16.
- Kriek E, Van Schooten FJ, Hillebrand MJX, Van Leeuwen FE, Den Engelse L, De Loof AJA, et al. DNA adducts as a measure of lung cancer in humans exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Health Perspect* 1993;99:71-75.
- Kristiansen J, Christensen JM, Iversen BS, Sabbioni E. Toxic trace element reference levels in blood and urine: influence of gender and lifestyle factors. *Sci Tot Environ* 1997;204:147-160.
- Lauwerys RR, Hoet P. *Industrial chemical exposure: guidelines for biological monitoring*. 2nd ed. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, Lewis Publishers 1993.
- Møller P, Wallin H, Knudsen LE. Comet metoden: En ny metode til hurtig påvisning af DNA-strengbrud. *Dansk kemi* 1996;2: 14-16.
- Pekari K, Vainiotalo S, Heikkilä, Palotie A, Luotamo M, Riihimäki V. Biological monitoring of occupational exposure to low levels of benzene. *Scand J Work Environ Health* 1992; 18:317-322.
- Solberg HE. Approved Recommendation (1987) on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *J Clin Chem Clin Biochem* 1987;25:645-656.
- Woodward A. Is passive smoking in the workplace hazardous to health? *Scand J Work Environ Health* 1991;17:293-301.

KAPITEL 7

Individuel følsomhed

*Lisbeth E. Knudsen
Lotte Risom
Ulla B. Vogel*

Individuel følsomhed

Individuel følsomhed har altid været relevant i arbejdsmiljøsammenhæng. Der er sket en udvælgelse af personer, der er særligt egnede til specielle job, og en fravælgelse af personer, der er mindre egnede. Udvælgelsesfaktorerne har været køn, alder, størrelse (højde, vægt), udholdenhed (kondition m.m.) og selvfølgelig færdigheder og evner. I perioder med opgangstid og i perioder med mangel på arbejdskraft har der ikke været den store interesse i at ansætte ud fra kendskab til personers forskellighed mht at kunne tåle kemiske eller psykiske påvirkninger. I perioder med fokus på individer og muligheder for at selekttere har interessen for individuel følsomhed været større, hvilket i dag er understøttet af stor forskningsaktivitet.

Et kontroversielt eksempel er selektionen af arbejdskraft ud fra tilstedeværelsen af enzymet Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6Pdh) i røde blodlegemer. I den kemiske industri i USA var bortselektion af personer uden enzymaktiviteten udbredt i 70'erne pga en formodet øget følsomhed over for kemikalier, bl.a. aromatiske aminer. Da G-6Pdh mangel er udbredt blandt negroide (> 10%), men ikke så udbredt blandt kaukasider (få %), blev selektionen anset for at være racistisk, og det har da heller ikke været muligt videnskabeligt at verificere en øget følsomhed.

Af eksempler fra Danmark kan nævnes anvendelse af test for prædisposition for enzymallergi hos produktionsansatte i 70'erne. Denne anvendelse blev også anset for kontroversiel, idet den præventive værdi har vist sig at være begrænset.

I dag er der en stigende anvendelse af test for helbred og udspørgen om helbred i forbindelse med ansættelse, og en række nyere forskningsresultater har peget på forskellig følsomhed i undersøgte grupper (unge mennesker, ældre mennesker, kvinder i den fertile alder, bomuldsarbejdere, buschauffører).

I de senere år er man især blevet opmærksom på skader på gener, som kan føre til udvikling af kræft. Den hurtige udvikling inden for den molekylære genetiske teknik har bl.a. ført til identifikationen af gener, som medvirker til at regulere cellers vækst og udvikling (tumor suppressor gener og proto-onkogene). Hvis disse gener beskadiges, kan det resultere i, at der opstår kræftceller. Fremover vil der blive kortlagt en række andre gener, som kan have betydning for udvikling af kræft og andre lidelser hos mennesker. Endvidere forskes der bl.a. i gener for psykisk stabilitet, narkotikamisbrug, alkoholisme og homoseksualitet. Analysen af menneskets gener vil sandsynligvis snart gøre det muligt at påvise andre gener, som hos i øvrigt sunde individer betinger en særlig følsomhed over for påvirkninger udefra. Dette rejser en række etiske spørgsmål om fortolkning, kommunikation og brug af den slags personlig information.

Ved genetisk screening undersøges forekomsten af personer med en bestemt gen- eller kromosomsammensætning i en befolkning eller en befolkningsgruppe. Formålet med undersøgelsen kan, som beskrevet af Det Ethiske Råd, være at opspore personer med en gen- eller kromosomsammensætning, der kan medføre eller disponere for udvikling af sygdom hos de pågældende og/eller de pågældendes efterkommere. Formålet med undersøgelsen kan også være at belyse hyppigheden af en given genetisk sygdom, af et bestemt sygdomsanlæg, en bestemt kromosomforandring eller evt af en bestemt kombination af arveanlæg i befolkningen.

Genetisk screening er en realitet i forskningen og anvendes i patientbehandling, fx i den rutinemæssige fosterscreening for kromosomsygdomme hos gravide over 35 år og i screeningen af nyfødte for stofskiftelidelserne Føllings sygdom og nedsat funktion af skjoldbruskkirtlen.

Mange spørgsmål af social og etisk art kan stilles, hvis genetisk screening i arbejdsmiljøsammenhæng bliver en realitet: Skal genetisk screening overhovedet foregå i forbindelse med ansættelser - hvis ja, hvilke konsekvenser kan det så få? Hvem beslutter, hvem der skal indgå i et genetisk screeningsprogram, og hvorledes informationen bruges, herunder hvem der skal have adgang til informationen - den enkelte, arbejdsgiveren, forsikringselskaberne? Hvordan kommunikerer resultaterne til de personer, der har været involveret?

Området er i en så rivende udvikling, at Folketinget i 1993 fandt, at det var nødvendigt med en lovgivning, så rutinemæssig anvendelse af test for individuel følsomhed i forbindelse med ansættelse kun kan forekomme med særlig tilladelse.

Typer af markører for følsomhed

Mennesket arver ét sæt arveanlæg fra hver af sine forældre. Disse arveanlæg er medbestemmende for, hvordan et menneske kommer til at være. Miljøet spiller også en væsentlig rolle. Der akkumuleres mutationer i arveanlæggene med tiden som beskrevet i kapitlet om kræft og kræftfremkaldende stoffer i bind II. De mutationer, der dannes i æg og sædceller, vil blive givet videre til næste generation. Det har ført til en del variationer i det genetiske materiale hos forskellige individer og mellem forskellige racer. Variationerne bestemmes oftest af et samspil mellem flere gener, men begrebet monogene sygdomme er stadig aktuelt enten i forbindelse med autosomal dominant nedarvning, autosomal recessiv nedarvning eller X-kromosombunden nedarvning. Den skønnede forekomst blandt nyfødte er 7 promille dominante, 2,5 promille recessive og 0,4 promille (eksklusive farveblindhed) kønsbundne monogene sygdomme. I tabel 7.1 er oplistet et udvalg af relativt hyppigt forekommende monogene sygdomme.

Tabel 7.1. Eksempler på relativt hyppige monogene sygdomme.

Type af nedarvning	Sygdomme
Autosomal, dominant	Nonpolypøs tarmkræft, brystkræft (BRCA1 og BRCA2), polycystisk nyresygdom, Huntingtons chorea, neurofibromatose, tuberøs sclerose
Autosomal, recessiv	Døvhed, albinisme, seglcelle-anæmi, alfa-1-antitrypsin mangel, phenylketonuri
X-kromosom bundet	Hæmofili A, glucose-6-phosphat-dehydrogenase mangel, fragilt X, farveblindhed

Nogle af mutationerne findes i gener, der har betydning for, hvor følsomme de enkelte mennesker er over for kemiske påvirkninger fra omgivelserne. Det er gener, hvis proteinprodukter, enzymer, medvirker i optagelsen eller nedbrydningen af skadelige stoffer, eller gener, der medvirker i reparation af DNA. Der er identificeret flere end 50 genetiske dispositioner, som medfører øget følsomhed over for giftige eller kræftfremkaldende stoffer. De fleste genetiske egenskaber, der medfører variation i følsomheden over for kemiske stoffer, giver ikke direkte anledning til genetiske sygdomme, men er simpelthen genetiske variationer, også kaldet polymorfier, i befolkningen. Tilstedeværelsen af nogle af disse arveligt betingede egenskaber kan være biologiske markører for følsomhed i arbejdsmiljømæssig sammenhæng. Tabel 7.2 og 7.3 viser forskellige typer af følsomhedsgener og mulige effekter af miljøpåvirkninger.

Type	Gendefekt/polymorfi	Miljøpåvirkning	Mulig sygdom
Biosyntese	Nedsat ALAD, som binder metaller	Blyudsættelse	Blyforgiftning
Metabolisme	CYP1A1 aktivitet, reaktive metabolitter	Forbrændingsprodukter	Lungekræft
Detoksificering	Lav NAT2 - lille acetylering af reaktiv metabolit	Forbrændingsprodukter	Blære, brystkræft
Detoksificering	Ingen GSTT1 medieret konjugation af reaktiv metabolit	Chlorerede opløsningsmidler	Kræft, akutte forgiftninger
DNA-reparation	XP-heterozygot med nedsat aktivitet og excisions repair system	UV-lys	Hudkræft
Vækstfaktor	HLA-H type med særlig følsomhed	Jerntilskud	Hæmokromatosis
Vækst	TGF- α , prænatait	Moders tobaksrøg	Ganespalte
Immunrespons	HLA-Dpbt1 markør	Beryllium	Lungeskade
Kræftdisposition	Li-Fraumeni		Flere kræftformer
Kræftdispostion	BRCA-1		Brystkræft

Tabel 7.2. Forskellige typer af følsomhedsgener. Mulige effekter af miljøpåvirkninger.

Tabel 7.3. Forskellige typer af følsomhedsgener. Hyppighed, genetik og analyse.

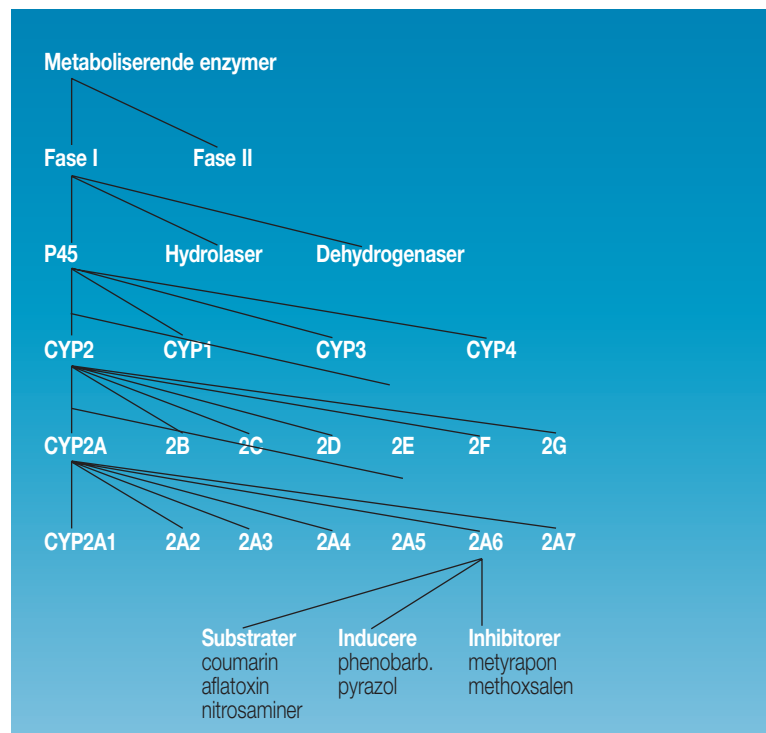
Sygdom eller abnormitet	Skønnet hyppighed af anlægsbærere	Genetik	Analysemetode	Mulig konsekvens
Seglcelle-anæmi	7-13% blandt sorte i USA	En bestemt mutation i betaglobin-genet	Hæmoglobin- eller DNA-analyse	Øget risiko for seglcelle-dannelse og deraf følgende hæmolytisk anæmi, infarkter, forstærket følsomhed for bly
Alfa- og betathalassæmi	alfa 4-5% beta 2-3% i Middelhavsområdet	Flere varianter af både alfa- og betaglobin mutation	Hæmoglobin- eller DNA-analyse	Blodmangel i mild til svær grad (evt fosterdød) afhængigt af varianten, forstærket følsomhed for bly
Glucose-6-phosphat dehydrogenase mangel	1-8% af mænd i Middelhavsområdet er hemizygoter	X-bundet recessiv	Enzym- eller DNA-analyse	Øget risiko for akut hæmolyse ved udsættelse for visse kemikalier, herunder medikamenter
Serum-alfa-1-antitrypsin mangel	2%	Én kendt basepar-ændring er hyppigst	DNA-analyse eller proteinbestemmelse	Prædisponering for emfysem ved udsættelse for lungeævsirriterende påvirkninger
Aryl hydroxycarbon hydroxylase induktion	Variere fra system til system	Flere varianter	DNA-analyse eller proteinbestemmelse	Øget risiko for lungecancer hos personer med højt enzymniveau
Acetylerings-fænotype	50% hurtige og 50% langsomme	Autosomal recessiv	Enzymaktivitet	Øget risiko for arylamin-induceret blærecancer hos langsomme acetylatorer
Superoxid dismutase mangel	< 0,1%	Autosomal recessiv	Enzymaktivitet	Nedsat cellulær modstand over for oxidativ påvirkning
Katalase variationer	2%	Autosomal recessiv	Enzymaktivitet	Øget følsomhed over for hydrogenperoxid
Nedsat DNA-reparation	1%	Flere varianter autosomal recessiv	Indirekte enzymaktivitet	Øget risiko for skader på det genetiske materiale og deraf følgende lidelser (cancer, immunforsvarsdefekt m.m.)
Aktiverede protoonkogene og/eller tumor suppressor gener	Ukendt	Flere varianter	DNA-analyser og proteinbestemmelse	Øget risiko for cancer

Metabolisme, enzymer

En række enzymer medvirker i omsætningen af fremmedstoffer i organismen, og deres aktivitetsniveau har betydning for, hvor hurtigt et fremmedstof bliver omdannet, nogle gange til uskadelige nedbrydningsprodukter, nogle gange til farligere (aktiverede) nedbrydningsprodukter. Nedbrydningsprodukternes egenskaber er naturligvis afgørende for, om det i det givne eksempel er bedst, om et fremmedstof bliver nedbrudt hurtigt eller langsomt.

I fremmedstofmetabolismen skelnes mellem fase 1 metabolisme, som typisk oxiderer stoffet, og fase 2 metabolisme, der typisk konjugerer stoffet, således at større vandopløselighed opnås.

Fig. 7.1 illustrerer opdelingen af metaboliserende enzymer i niveauer. De individuelle enzymer er karakteriseret ved, at grup-



Figur 7.1. Opdeling af metaboliserende enzymer i niveauer. De individuelle enzymer er karakteriseret ved substrater, inducere og inhibitorer. (Fra Pelkonen et al., 1995).

per af stoffer, substrater, især omsættes af enzymet, mens andre stoffer virker ved at øge enzymaktiviteten, inducere, og atter andre stoffer mindsker enzymaktiviteten, inhibitorer.

Cytokrom P-450-enzymene medvirker i den oxidative metabolisme af en lang række af naturligt forekommende forbindelser, talrige medikamenter (fx sovemidlerne barbiturater) og kræftfremkaldende stoffer som polyaromatiske kulbrinter, genotoksiske stoffer og andre fremmedstoffer. Individuel variation i enzymaktiviteten giver individuelle forskelle i mængden af aktiverede kræftfremkaldende stoffer, og dermed i risikoen for en initiering af sygdomsudvikling (nærmere beskrevet i kapitlet om kræft og kræftfremkaldende stoffer i bind II). Specielt i forbindelse med blandingseksposeringer, fx ved medicinindtagelse, er det væsentligt at have kendskab til vekselvirkninger mellem inducere, inhibitorer og substrat. Tabel 7.4 viser eksempler på sådanne vekselvirkninger: CYP2E1 medvirker ved oxidationen af alkoholer, og ethanol inducerer øget aktivitet af dette enzym, mens disulfiram (antabus) hæmmer aktiviteten. Markøren, som anvendes, er et "uskadeligt" stof, koffein fra kaffe, te eller cola. Relative koncentrationer af markøren og dens omdannelsesprodukter kan fortælle, om personen er hurtig eller langsom til at metabolisere med det undersøgte CYP. Personer med en øget aktivitet af CYP2E1 har øget følsomhed, når de bliver udsat for bl.a. benzen, styren, N-nitrosaminer og methylchlorid, da disse forbindelser hurtigere bliver omsat til farligere omdannelsesprodukter i disse personer.

P450 enzym	Substrat	Inhibitor	Inducer	Markør
CYP1A2	Aromatiske aminer	Fluvoxamin	PAH'er	Koffein
CYP2A6	Butadien	Psoralen	Barbiturater	Coumarin
CYP2C9	NSAID	Sulphaphenazol	Barbiturater	s-Warfarin
CYP2C19	Hexobarbital		Barbiturater	Mefenytol
CYP2D6	Antidepressiva			Debrisoquin
CYP2E1	Alkoholer	Disulfiram	Ethanol	Koffein
CYP3A4	Steroider			Lidocain

Tabel 7.4. Væsentlige CYP 450-varianter med eksempler på substrater, inducere og markører.

Personer med øget aktivitet af endnu en cytokrom P450-variant, CYP1A1, har større kræfthyppeghed, når de bliver udsat for aromatiske kulstofforbindelser som fx benzen og styren. Disse stoffer omdannes af CYP1A1 til farligere forbindelser.

CYP2D6 - en cytokrom P450-variant, der omsætter aminer

Personer klassificeres i tre grupper ud fra enzymaktivitet. Poor Metabolisers (PM) med lav enzymaktivitet udgør ca 5-10% af den kaukasiske befolkning. Extensive Metabolisers (EM) med høj og Ultrarapid Metabolisers (UM) med ultrahøj enzymaktivitet er hyppigst. Ved opfølgende undersøgelser på biologiske prøver fra patienter har det vist sig, at gruppen af personer med EM og UM er overrepræsenteret blandt lungecancerpatienter. Det har også vist sig, at UM er overrepræsenteret blandt storrygere, mens PM er overrepræsenteret blandt ikke-rygere.

Øget CYP2D6-aktivitet (EM, UM) synes således at hænge sammen med rygeadfærd, hvilket igen kan hænge sammen med, at rygning hos personer med høj enzymaktivitet kan øge aktiviteten af dopamin i hjernen.

Lav CYP2D6-aktivitet er sat i forbindelse med Parkinsons syge, hvor dopamin-niveauet i hjerne er lavt. Et yderligere indicium på sammenhængen mellem Parkinsons syge og genetisk disponeret lav CYP2D6-aktivitet er den relativt større frekvens af ikke-rygere blandt personer med Parkinsons syge, sammenlignet med andre. Vi mangler nu at se, om der så virkelig blandt patienter med Parkinsons syge er en overrepræsentation af PM.

Fase 2 enzymet N-acetyltransferase (NAT) medvirker ved afgiftningen af bl.a. aromatiske aminer, som findes i farvestoffer og cigaretrøg. Personer med lav N-acetyltransferase aktivitet har en højere risiko for blærekræft, hvis de udsættes for arylaminer, fx i farvestofproduktionen eller i den grafiske branche. Imidlertid synes personer med en høj N-acetyltransferase aktivitet at have forhøjet risiko for tarmkræft, fordi enzymets tilstedeværelse kan øge omdannelsen af andre stoffer i tarmen til skadelige nedbrydningsprodukter og dermed medføre øget risiko for tarmkræft. Der er derfor ikke for N-acetyltransferase en éntydig sammenhæng mellem genotype og risiko.

Manglende tilstedeværelse af genet for fase 2 enzymerne glutathion S-transferaser (GST), som bl.a. øger udskillelsen af forbrændingsprodukter, er sat i forbindelse med øget risiko for kræft i lunger, tarm og mave. Der er fundet en række forskellige varianter, hvoraf ca halvdelen af befolkningen mangler M1-varianten. To andre varianter, P1 og T1, sættes i forbindelse med udskillelse af bl.a. umættede kulbrinter. P1- og T1-varianterne mangler hos ca 10% af befolkningen.

I en undersøgelse af københavnske buschauffører fandtes en dobbelt så stor frekvens af kromosomskader hos personer, der manglede enzymaktivitet af såvel GSTM1 som NAT, i varianten 2 (NAT2). Da begge enzymer medvirker ved detoksificeringen af forbrændingsprodukter, sættes det øgede antal kromosomskader i relation til eksponeringen fra trafikforurening.

Genotype ¹⁾	Antal personer	Gaps minus gaps	Total inkl. gaps	Total
GSTM1-0, NAT2 slow	30	1,00±1,05 ²⁾	2,27±1,53 ^{*)}	3,20±2,06 ^{*)}
GSTM1-0, NAT2 rapid	30	0,90±0,76	1,73±1,05	2,63±1,40
GSTM1+, NAT2 slow	27	0,85±0,72	1,81±1,55	2,67±1,82
GSTM1+, NAT2 rapid	19	0,58±0,69	0,95±0,85	1,53±1,07

1) GSTM1 forekommer i variationerne 0 og 1, hvor der er hhv lav og høj aktivitet af glutathion-S-transferase enzym M1. NAT2 forekommer i variationerne slow og rapid, hvor der er hhv lav og høj aktivitet af N-acetylase enzym. Begge enzymer medvirker til at øge vandopløseligheden og dermed udskillelsen af bl.a. forbrændingsprodukter.

2) Gennemsnit ± standardafvigelse af procentvise antal kromosomskader i gruppen af personer. For hver person er der målt på 100 celler.

*) p < 0,0005 i Poisson test sammenlignet med GSTM1+, NAT2 rapid.

Tabel 7.5. Kromosomskader hos buschauffører, afhængighed af metaboliske genotyper. (Fra Knudsen et al., 1998).

Alfa-1-antitrypsin

Manglen på alfa-1-antitrypsin (målt i serum) er en væsentlig genetisk faktor i lungeemfysem - en kronisk lungesygdom, som er karakteriseret ved uoprettelig ødelæggelse af væggene i det perifære lungevæv, dvs de respiratoriske bronchioler og alveoler. Disse skader er resultatet af nedsat hæmning af et proteinfordøjende enzym, der nedbryder cellevæggene. Hos heterozygote (personer, som både har et defekt og et normalt gen for alfa-1-antitrypsin) er alfa-1-antitrypsin niveauet på 55-60% af det normale. Epidemiologiske studier viser, at heterozygote personer også har en forhøjet risiko for at få en kronisk lungesygdom. Denne risiko øges ved rygning og udsættelse for fx støv i arbejdsmiljøet. I USA er ca 3% af befolkningen heterozygote for alfa-1-antitrypsin.

I 1988 gennemførtes en undersøgelse af allergi og luftvejslidelser hos bomuldsarbejdere i Vejle. I den første del af studiet blev arbejdsmiljøet og de ansattes reaktion herpå undersøgt. Reaktionen hos de ansatte blev bl.a. målt vha spørgeskemaer, lungeundersøgelser og allergitest, og blodprøver blev analyseret for bl.a. alfa-1-antitrypsin i serum. Man fandt en øget hyppighed af "bomuldsunger" hos personer med et lavt indhold af alfa-1-antitrypsin proteinet i serum. Et lavt niveau blev defineret som mindre end 35 µmol/L.

I undersøgelsen målte fænotypen, dvs enzymaktiviteten i serum, og ikke genotypen af alfa-1-antitrypsin hos i alt 226 undersøgelsespersoner, men der er i litteraturen rapporteret at være god overensstemmelse mellem fænotype og genotype. Undersøgelsesresultaterne kunne umiddelbart have ført til en anvendelse af denne test til at forebygge lungelidelser hos de særligt følsomme med lav aktivitet. For at bruge denne type af test til sådanne formål er det væsentligt at kende sensitivitet og

specificitet samt den prædiktive værdi af alfa-1-antitrypsin serumkoncentrationer mindre end 35 $\mu\text{mol/L}$ i forhold til lungefunktionsændring. Disse størrelser kan udregnes fra datamaterialet, se tabel 7.6. Det er her væsentligt at mærke sig, at sensitivitet og prædiktiv værdi er meget lav, hhv 17% og 28% mod ideelt 100%. Der vil med andre ord uberettiget bortsorteres personer ved anvendelse af denne metode, og andre personer ville opnå en falsk tryghed over for følsomhed.

Tabel 7.6. Lugesymptomer og serumkoncentrationer af alfa-1-antitrypsin hos støvudsatte bomuldsspinnerarbejdere. (Omregnet fra Sigsgård, 1990).

		Lugesymptomer		Total
		Ja	Nej	
Serum alfa-1-antitrypsin koncentration	$\leq 35 \mu\text{mol/L}$	5	13	18
	$> 35 \mu\text{mol/L}$	25	183	208
	Total	30	196	226

Sensitivitet: $5/(5 + 25) = 5/30 = 17\%$

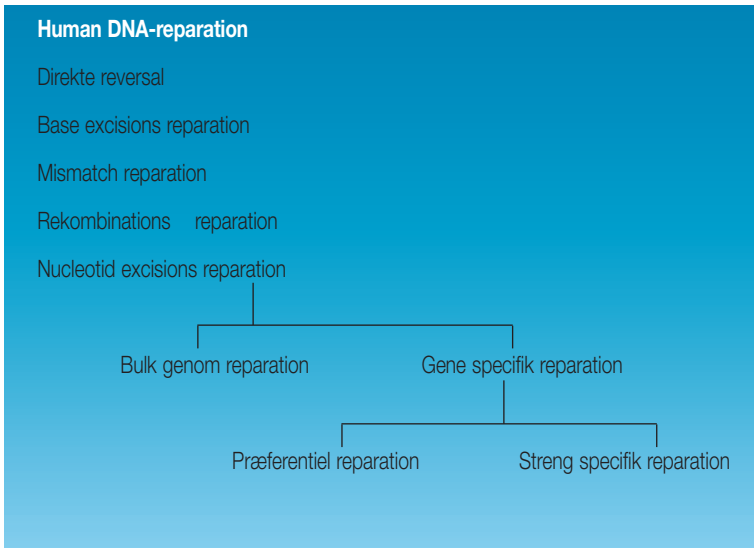
Specificitet: $183/(13 + 183) = 183/196 = 93\%$

Prædiktive værdi af en lav serumkoncentration mht lungesympptomer: $5/(5 + 13) = 5/18 = 28\%$

Prædiktive værdi af normal serumkoncentration og ingen lungesympptomer: $183/(183 + 25) = 183/208 = 88\%$

DNA-reparation

Mange kræftfremkaldende stoffer er kræftfremkaldende, fordi de ændrer arveanlæggene, dvs er genotoksiske. Derfor spiller evnen til at reparere de påførte skader på DNA'et en væsentlig rolle for forskellige personers følsomhed over for genotoksiske stoffers kræftfremkaldende påvirkninger. Der medvirker mange forskellige enzymer i DNA-reparationen, og genetiske defekter i begge kopier af nogle af reparationsgenerne medfører manglende reparation af nogle typer af DNA-skader. Disse defekter er forbundet med alvorlige arvelige sygdomme som fx Xeroderma pigmentosum, som bl.a. er karakteriseret ved en flere tusinde gange øget risiko for hudkræft. I normalbefolkningen er variationen i DNA-reparationskapaciteten naturligvis mindre drastisk, men vi har for nylig fundet en sammenhæng mellem nedsat DNA-reparationskapacitet og øget hudkræft hos psoriasispatienter, der gennem flere år har været behandlet for deres psoriasis. Det har længe været kendt, at psoriasisbehandling med bl.a. psoralen og UV-A-stråler samt tjærebehandling øger risikoen for hudkræft. Fig. 7.2 illustrerer de mest velkendte reparationsmekanismer, som i dag er identificeret og karakteriseret i humane celler.



Figur 7.2. Forskellige former for DNA-reparationsmekanismer i humane celler. Figuren er baseret på en model af Vilhelm Bohr (1995).

Efterhånden som nye genotoksiske stoffer, der er i stand til at inducere nye typer af DNA-skader, bliver fundet, vil også nye typer af reparationsmekanismer blive fundet og karakteriseret i fremtiden. Inden for de sidste år er interessen for DNA-reparation steget i takt med stigende viden om dens vigtige funktion i bevarelsen af cellens genomiske stabilitet. Således blev DNA-reparation valgt som "årets molekyle" i Science i 1994. Adskillige

Sygdom	Reparationsvej involveret	Kræfttilbøjelighed	Neurologiske sygdomme
Human non polyposis colon cancer (HNPCC)	Mismatch reparation	Ja	Nej
Xeroderma pigmentosum (XP)			
Klassisk	Nucleotid excisions reparation	Ja	Ja
Variant	Postreplikations reparation	Ja	Nej
Cockayne's syndrom (CS)	Nucleotid excisions reparation	Nej	Ja
Trichothiodystrophy	Nucleotid excisions reparation	Nej	Ja
Fanconi's anemia	?	Ja	Nej
Bloom's syndrom	?	Ja	Nej

Tabel 7.7. Forskellige arvelige DNA-reparations sygdomme.

studier underbygger, at DNA-reparation spiller ind på den normale ældningsproces.

Tabel 7.7 viser forskellige arvelige sygdomme, associeret med et defekt DNA-reparationssystem. Tabellen angiver desuden den reparationsvej, som er knyttet til sygdommen, og om den giver udslag i tilbøjelighed for kræft og/eller neurologiske sygdomme.

Metoder til genetisk screening

Prøvetagning og analyse

Genetiske tests kan udføres som analyse direkte på DNA. DNA-analyser indebærer, at man har kendskab til den præcise lokalisering og struktur af det eller de gener, der ønskes analyseret. Ved analyse for, om DNA-informationen transskriberes (overskrives) til RNA (ribonukleinsyre), får man et mål for, om DNA er aktivt. Eventuelle ændringer i DNA-sekvensen vil kunne ses i RNA-sekvensen.

RNA oversættes til proteiner. Proteinanalyser kan vise, hvorledes informationen overføres fra DNA, og vil derfor også give et billede af, om der er ændringer i DNA-sekvensen (fig. 7.3).

Figur 7.3. Genernes rolle i cellefunktionen.

Gen ► RNA-syntese ► Proteinsyntese ► Cellefunktion

Proteinanalyser er i mange tilfælde mere specifikke og følsomme mht at opspore mutationer, der giver ændring i den genetisk betingede egenskab. Hovedparten af de analyser, der i dag udføres for genetisk betinget følsomhed, udføres ved proteinanalyser i blod. Således er den fundamentale biokemiske defekt i selve DNA-sekvensen kun kortlagt for mindre end 10% af de genetiske sygdomme, der skyldes ét defekt gen.

Gennem grundig udspørgen om personers sygdomshistorie og familiens sygdomshistorie kan man også i nogle tilfælde kortlægge, om der findes arvelige dispositioner for udvikling af visse kræftformer, visse allergier og visse hjerte-karlidelser og andre sygdomme.

Udviklingen af den såkaldte PCR-teknik (polymerase chain reaction), der muliggør en hurtig og præcis opformering af udvalgte DNA-områder ud fra meget små prøvemængder (fx tusindedele milliliter blod), har gjort DNA-analyser hurtigere og billigere.

I Danmark er genetisk testning i forhold til arbejdsmiljø kun på forsknings- og udviklingsstadiet. Men der findes muligheder i udlandet for at få kortlagt følsomhedsgener, og specielt i forsikringssammenhæng ser det ud til, at analyseresultater i stigende grad anvendes i den individuelle sagsbehandling.

Kvalitet af data

Resultaterne af undersøgelserne skal være velvaliderede, dvs målingerne skal være udført efter en anerkendt metode, hvor kontrolprøver er medtaget. Det skal sikres, at prøverne stammer fra det rigtige individ (og væv), og dobbeltbestemmelser, gerne af uafhængigt indhentede prøver, bør foreligge. Og resultaterne skal naturligvis kunne reproducere af et uafhængigt laboratorium. Denne såkaldte "laboratorievaliditet" er uddybet i afsnittet om forskning - molekylærepidemiologiske undersøgelser.

Anvendelse

Forebyggelse - før ansættelse

Med tiden kan man forestille sig visse tests udført inden personers udsættelse for farlige påvirkninger eller belastning af fysisk eller psykisk art. Validiteten af testene mhp prædiktiv værdi af skade ved en given genetisk afvigelse er i dag imidlertid ikke dokumenteret for nogen af de i tabel 7.3 nævnte områder. Den prædiktive værdi kan først bestemmes, når en gruppe raske personer, testet før påvirkning, følges gennem en årrække, og eventuelle sammenhænge med genetiske afvigelser og øget risiko for sygdomsudvikling kan kortlægges. Inden for kræftområdet er en række projekter fokuseret på denne problemstilling, ligesom det må forventes, at data vedr. nedsat arvelig DNA-reparation og øget cancerhyppighed på længere sigt vil føre til personlig rådgivning af særligt udsatte om fravalg af særlige erhverv (fx arbejde i stærkt sollys). Også rådgivning af personer heterozygote for alfa-1-antitrypsin mhp nedsat støv- (og cigaretrøgs-) eksponering har været på tale. Den fremherskende opfattelse har hidtil været, at data ikke var stærke nok hertil, men at test for alfa-1-antitrypsinmangel var indikeret hos personer med lungesympomer, dvs ved sygdomsudredning.

Udredning - sygdomsudredning

Som ovenfor beskrevet anvendes oplysninger om personers individuelle følsomhed i stigende grad ved sygdomsudredning, og det kan forventes at stige fremover. Kræft og allergi er de effektområder, hvor de fleste markører er kortlagt.

Forskning - molekylærepidemiologiske undersøgelser

Megen viden om personers risiko for at udvikle en sygdom ved udsættelse for farlige stoffer opnås gennem systematiske studier af udsatte befolkningsgruppers sygelighed (epidemiologiske undersøgelser), ved forsøg med bakterier og cellekulturer (in vitro forsøg) samt ved dyreforsøg. De epidemiologiske undersøgelser har en meget lav følsomhed, og disse undersøgelser kan kun kortlægge skadevirkninger, som er opstået ved eksponering år tilbage. In vitro og dyreeksperimentelle forsøg kan ikke dække de aspekter, som er særlige for mennesker. Men ved at koble anvendelsen af biologiske markører med sygdomsovervågning (molekylær epidemiologi) kan man opnå en større sikkerhed i risikovurdering, således at man kan iværksætte forebyggelsesstrategier.

Berettigelsen af molekylærepidemiologiske undersøgelser kan summeres i følgende punkter:

- ◆ Molekylær epidemiologi skaber grundlag for grænseværdifastsettelse.
- ◆ Markørerne kan vise øget effekt af stigende udsættelse (dosis-effekt).
- ◆ Der opnås mere præcis vurdering af udsættelsen og mindre fejlklassifikation af udsættelsesvariable.
- ◆ Markørerne gør det muligt at studere sygdomsudvikling og påvise sygdomsudviklingen, inden sygdommen fremtræder klinisk. Herved skabes mulighed for at gribe ind og forebygge sygdomsudbrud.
- ◆ Anvendelsen af markører giver et mere homogent grundlag for klassifikation af sygdomme.
- ◆ Forskelle fra person til person i følsomhed over for eksponering kan kortlægges, og denne viden kan anvendes til at klassificere særlige risikogrupper.
- ◆ Forståelsen for sygdomsudvikling kan øges ved en stærkere biologisk baseret forskningsindsats koblet til epidemiologiske data.
- ◆ Anvendelsen af biomarkører øger værdien af traditionel epidemiologisk forskning, specielt når der er tale om svage sammenhænge.

- ◆ Metoderne til risikovurdering eller risikobestemmelse forbedres.
- ◆ Det videnskabelige kendskab til sygdomsprocesser og helbredseffekter øges gennem tværfaglig forskning.

For at kunne sige god for en molekylærepidemiologisk undersøgelse må man nødvendigvis kunne vurdere, i hvilken udstrækning undersøgelsen kan forudsige en bestemt sygdomsudvikling. En vurdering af sammenhængen mellem et undersøgelsesresultat og en fremtidig sygdomsudvikling kan imidlertid kun ske ved at følge personer, som har indgået i undersøgelsen. Dette er sket i en større igangværende undersøgelse, hvor personer er grupperet efter måleresultater fra kromosomanalyser (den europæiske kromosomkohorte). Risiko for kræftudvikling og udvikling af hjerte-karsygdomme hos personer med højt kromosomskade-niveau sammenlignes med risikoen hos personer med et lavt kromosomskade-niveau. Som beskrevet i genotoksikologikapitlet i bind II er der fundet en sammenhæng mellem højt niveau af kromosomskader og kræftisiko.

Sammenlignende målinger på personer i forskellige grupper, fx arbejdsmiljøudsatte i forhold til ikke-arbejdsmiljøudsatte, rygere i forhold til ikke-rygere og kræftpatienter sammenlignet med ikke-kræftpatienter, kan også give data til kritisk vurdering af metoder. Den kritiske vurdering kan omfatte:

- ◆ reproducerbarhed af resultater
- ◆ variation i målinger fra person til person
- ◆ bestemmelse af relevante faktorer, der påvirker måleresultatet, fx køn, alder, rygevaner
- ◆ forbedret undersøgelsesdesign/tilrettelæggelse
- ◆ identifikation af de mest relevante, statistiske sandsynligheder (estimatorer) og den mest relevante statistiske analysemetode
- ◆ forudsigelse/estimering af statistisk styrke
- ◆ bestemmelse af niveauet for fejlklassifikation for de forskellige markører.

Lovgivning og etik

Lov om brug af helbredsoplysninger

Lovgivningsmæssigt er der på enkelte områder fastsat regler for, hvilke personer der udelukkes fra et givet arbejde (transportområdet, herunder piloter, dykkere, forsvaret, unges arbejde med farlige stoffer, gravides arbejde). Men generel brug af oplysninger om personers individuelle egenskaber i ansættelsessituationer er i dag ikke tilladt. Det er kun tilladt i særlige situationer,

beskrevet i "Lov om brug af helbredsoplysninger mv på arbejdsmarkedet", som sætter rammer for brug af og indhentning af oplysninger. Det er således tilladt for en arbejdsgiver at spørge, om en ansøger lider af en sygdom eller har symptomer på en sygdom, hvis det har væsentlig betydning for ansøgerens arbejdsdygtighed. Arbejdsgiveren må ligeledes kun bede ansøgeren om at indhente yderligere helbredsoplysninger, hvis der findes sygdomme, man ved kan blive forværret ved det pågældende arbejde. Det gælder typisk astma og allergier over for mel, dyrehår, metaller m.m. Men helbredstesten må ikke være en undskyldning for ikke at forbedre arbejdsmiljøet ved i stedet at sortere i arbejdskraften. I særlige tilfælde kan fx miljøhensyn eller eksportensyn udløse krav til helbredstest af de ansatte. Det kan kun foregå efter speciel tilladelse og grundig information af ansøgeren. Ifølge loven er en ansøger ikke forpligtet til at lade sig undersøge, og undersøgelsesresultaterne må ikke videregives til arbejdsgiveren. Det er den praktiserende læge, der informerer ansøgeren om undersøgelsen og dens resultat.

Etiske aspekter

Videnskabsetisk selvdeklaration

Anvendelsen, i forskningssammenhæng, af biologiske prøver fra mennesker kræver specielle overvejelser omkring information, samtykke, fortrolighed og tilbagemelding, som det er beskrevet i Helsinki deklARATION 2. I Danmark skal forskningsprojekter, som indebærer indsamling af personlige oplysninger og prøver fra personer, forudgå af en anmeldelse til den lokale videnskabsetiske komite. Bestemmelserne er fastsat i lov om et videnskabsetisk komitesystem og behandling af biomedicinske forskningsprojekter, således at ethvert biomedicinsk forskningsprojekt, der indebærer forsøg på eller deltagelse af mennesker, skal anmeldes til den regionale komite for det område, hvori den projektansvarlige har sit virke. Denne anmeldelse skal indeholde en detaljeret protokol, som bl.a. beskriver risikoen for personerne ved at deltage, hvilken form for information personerne modtager skriftligt og mundtligt, og hvorledes personerne afgiver deres samtykke.

Alle forskningsprojekter, hvori personer deltager eller giver prøver til, skal bedømmes af lokale videnskabsetiske komiteer:

I bedømmelsen påser komiteerne især, at

- ◆ de risici, der kan være forbundet med at gennemføre projektet, er nøje vurderet, og hverken i sig selv eller i forhold til projektets forudsigelige fordele har et uforvarligt omfang
- ◆ de patienter eller raske forsøgspersoner, der deltager i projektet, skriftligt og mundtligt vil blive orienteret om dettes indhold, forudsigelige risici og fordele, og at deres frie og udtrykkelige samtykke vil blive indhentet og givet skriftligt
- ◆ information vil blive givet til og samtykke indhentet fra nærmeste pårørende, værge eller donor i de tilfælde, hvor forsøget udføres under omstændigheder, som udelukker information og indhentelse af samtykke
- ◆ det klart fremgår af informationen, at patienter og raske forsøgspersoner eller pårørende, værge eller donor på ethvert tidspunkt kan tilbagekalde deres samtykke
- ◆ projektet efter sit formål og mht sin metodik repræsenterer god videnskabelig standard, samt at der er tilstrækkelig grund til at gennemføre projektet.

Alle arbejdsmiljøundersøgelser og kliniske afprøvninger i Danmark, hvori der indgår prøvetagning, behandles af de videnskabetiske komiteer.

Registerkrav

Hvis et register med personlig information oprettes, skal man følge regler fastsat af Registertilsynet, som sikrer fortrolighed (konfidentialitet). Reglerne for det enkelte register skal således beskrive, hvem der har adgang til informationen, og hvorledes disse personer har adgang til den. Information om udsættelse for mulige skadelige påvirkninger og følsomhed er en personlig information, der kan indeholde oplysninger om mulige helbredsskader. En sådan information kan derfor medføre forskelsbehandling og være meget følsom i forhold til fremtidige arbejdsmuligheder og forsikringsmuligheder. Det er derfor væsentligt at holde denne information fortrolig med præcise retningslinier for, hvem der har adgang til den. På den anden side er det også nødvendigt, at oplysninger fra testresultaterne, der måtte vise en helbredsforringelse, som kan forebygges, bruges i rette tid. Det kan derfor være et problem at oprette anonyme banker med vævsprøver.

Udviklingstendenser

En central person i kortlægningen af sårbarhedsgener (økogenetik) har udtalt:

”Der er ikke tilstrækkeligt videnskabeligt belæg for at gennemføre genetiske undersøgelsesprogrammer med det formål at nægte ansættelse i job eller flytte fra job for at undgå arbejdsbetingede sygdomme. På trods af, at forskellige tiltag fra industrien i USA og andre lande har rapporteret eller anbefalet sådanne programmer i forhold til personer, der er heterozygote for glukose-6-phosphatdehydrogenase mangel, seglcelleanæmi, thalassæmi og alfa-1-antitrypsin, er der ikke i dag tilstrækkelig viden til at retfærdiggøre en sådan politik.

Identifikationen af genetiske faktorer, som kan disponere for arbejdsbetinget sygdom, er en videnskabelig disciplin, som endnu er på børnestadiet. Det biologiske rationale for at undersøge for at kortlægge sådanne faktorer er imidlertid velbegrunderet. Med den nuværende viden kan det kun anbefales at gennemføre genetiske undersøgelser i arbejdsmiljøsammenhæng som led i veltilrettelagte forskningsprojekter og ikke som undersøgelsesprogrammer, mens en udbredt og betydelig anvendelse af genetiske undersøgelser må forventes i fremtiden. Det er således klart, at genetiske forskelle, bidrager væsentligt til forklaringen af variationen i reaktioner på miljøpåvirkninger. Den procentdel af den totale variation i sygdomsforekomsten, der kan forklares ved genetiske forskelle, kendes ikke. Det skal også tages med, at andre biologiske variable som alder, ernæringstilstand, sygdomsforekomst og livsstil også i høj grad påvirker kroppens følsomhed over for forskellige miljøpåvirkninger. Undersøgelser af faktorer, der påvirker følsomheden over for sygdomme fremkaldt af miljø og arbejdsmiljøpåvirkninger, bør derfor ikke stoppe ved kortlægningen af de genetiske faktorer, men også omfatte ovenstående variable” (Calabrese 1996).

At udviklingen går mod mere testning for individuel følsomhed kan ses at tabel 7.8, som viser, hvilke sygdomme der allerede i 1988 kunne testes for, og hvilke der er på vej.

Etisk debat

Det Etske Råd har i 1993 udgivet en redegørelse om genetisk screening, hvor der bl.a. beskrives forskellige faktorer af betydning i den etiske debat:

- ◆ I forbindelse med genetiske sygdomme kan den enkelte siges at befinde sig i en udsat situation, således at det offentlige har pligt til at hjælpe.

Tilgængelige tests	
Polycystisk nyresygdom	500.000
Fragilt X syndrom	100.000
Seglcelle-anæmi	65.000
Duchennes muskeldystrofi (DMD)	32.000
Cystisk fibrose	30.000
Huntingtons chorea	25.000
Hæmofili A og B (blødersygdom)	20.000
Fenylketonuri (Føllings sygdom)	16.000
Retinoblastom	10.000
Total	ca 800.000

Mulige fremtidige tests	
Forhøjet blodtryk	58.000.000
Ordblindhed	15.000.000
Hjertesygdomme	6.700.000
Kræft	5.000.000
Manio-depressivitet	2.000.000
Skizofreni	1.500.000
Type 1-diabetes	1.000.000
Alzheimers sygdom	250.000
Muskeldystrofi, ud over DMD	100.000
Total	ca 90.000.000

Tabel 7.8. Hyppige monogene sygdomme, der kan diagnosticeres ved DNA-analyse samt et skøn over antallet af berørte amerikanere. USA's samlede indbyggertal er ca 250 mio.

- ◆ Den viden om sygdom, den enkelte kan få, hører med til personsfæren og er derfor omfattet af kravet om respekt for personsfære og selvbestemmelsesret.
- ◆ Viden om egen genetisk sygdom kan indebære etiske problemer i forholdet til andre mennesker: slægtninge og evt kommende børn. Omvendt kan slægtninges ønske om viden om genetisk sygdom føre til krav om, at den enkelte skal skaffe sig viden om egen sygdom.

Information

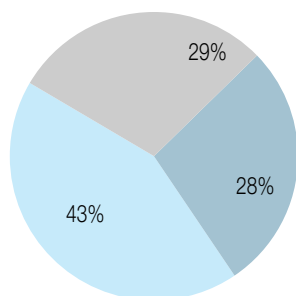
En nylig afsluttet undersøgelse af befolkningens og lægers forskellige holdning til oplysning om resultater af genetiske tests

afslørede en stor forskel i holdningerne til dette (fig. 7.4). Der var således langt større forbehold blandt læger sammenlignet med lægfolk over for at oplyse om genetisk betinget risiko for brystkræft ud fra en enkelt test. Det større forbehold blandt læger skyldes bl.a. viden om, at en række andre faktorer (genetiske såvel som livsstilsbetingede) har betydning for udvikling af brystkræft.

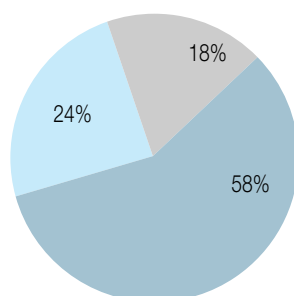
Undersøgelsen i Danmark er en del af et europæisk studium, hvor der er fundet store nationale forskelle i holdningen blandt såvel læger som lægfolk til videregivelse af oplysninger. I Danmark og Sverige var der mindre ønske om information om genetisk betinget risiko for brystkræft ud fra en enkelt test hos såvel læger som lægfolk, sammenlignet med Slovenien og Østrig. Der ligger således både nationalt og internationalt en stor fremtidig opgave mht kritisk vurdering af formidling af denne type undersøgelsesresultater.

Situation BRYSTCANCER GEN

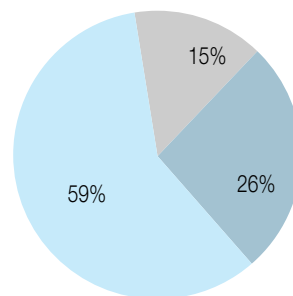
Læger



Lægfolk



Studenter



Figur 7.4. Resultat af en undersøgelse blandt danskerne om information om resultat af genetisk test. Uden at oplyse bloddonorer derom sender en læge blodet til test for brystkræft. Det viser sig, at en 20-årig kvinde har forandringer i sine arveegenskaber. Dette taler for, at hun er i risikogruppe for at få brystkræft i 30-75-års alderen. Testen bekræftes af et udenlandsk laboratorium. Den eneste kilde til kvinden er hendes hjemmeadresse.

- ◆ Spørgsmål til lægpersonen: Mener du, lægen skal forsøge at kontakte kvinden?
- ◆ Spørgsmål til lægen og den lægestuderende: Ville du i en sådan situation forsøge at kontakte kvinden?

(Kilde: Lisbeth E. Knudsen og Gerda Frenzt: Uopfordret medicinsk rådgivning. Ugeskrift for Læger 1998).

Litteratur

- Bohr VA. DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis* 1995;16:2885-2892.
- Calabrese EJ. Biochemical individuality: The Next Generation. *Reg Tox Pharm*1996;24:S58-67.
- Dansk Selskab for Arbejds- og miljømedicin (DASAM).
Helbredsovervågning i arbejdsmiljøet - Metoder og indikationer. Arbejdsmiljøfondet. 1994.
- Det etiske råd. Beskyttelse af følsomme personoplysninger. Specielt mhp genetiske oplysninger. En redegørelse. 1992.
- Det etiske råd. Genetisk screening. En redegørelse. 1993.
- Draper E. Risky Business. Genetic testing and exclusionary practices in the hazardous workplace. *Cambridge Studies in Philosophy and Public Policy*. 1991.
- Gentestudvalgets betænkning om helbredsoplysninger på arbejdsmarkedet. Arbejdsministeriets betænkning nr. 1269. København: Statens Information 1994;163-177.
- Grandjean P (ed). Farlig udsættelse. FADL. København. 1998.
- Hirvonen A. Genetic factors in individual responses to environmental exposures. *J Occup Environ Med* 1995; 37: 37-43.
- Hubbard R, Lewontin RC. Pitfalls of genetic testing. *New Eng J Med* 1996;334:1192-1193.
- Johnsen CR, Sorensen TB, Ingemann Larsen A, Bertelsen SA, Andreasen E, Kofoed GS, Fredslund Nielsen L, Gynthelberg F. Allergy risk in an enzyme producing plant: a retrospective follow up study. *Occup Environ Med* 1997; 54:671-675.
- Knudsen LE. Evaluation of unscheduled DNA synthesis (UDS) in human lymphocytes as an indicator of genotoxic exposure. Use and validation of a selected method for monitoring and screening for occupational genotoxic exposures. PhD-afhandling. Arbejdsmiljøinstituttet, Københavns Universitet - Biokemisk Institut B. pp 1-85. 1993.
- Knudsen LE, Nørby S. Genetiske undersøgelser i arbejdsmiljø sammenhæng. *Ugeskr Læger* 1994;156:3880-3886.
- Knudsen LE, Frentz G. Uopfordret lægelig indgriben. En spørgeskemaundersøgelse blandt læger og lægpersoner. *Ugeskr Læger* 1998;160/34:4901-4905.
- Knudsen LE, Norppa H, Gamborg MO, Nielsen PS, Okkels H, Soll-Johanning H, Raffn E, Järventaus H, Autrup H. Chromosomal aberrations induced by urban air pollution in humans: influence of DNA Repair and Polymorphisms of Glutathione S-transferase M1 and N-Acetyltransferase 2. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 1999;8:303-310.
- Lov om brug af helbredsoplysninger mv på arbejdsmarkedet. Lov

- nr. 286 af 24 april 1996.
- Møller P, Knudsen LE, Frentz G, Dybdahl M, Wallin H, Nexø BA. Seasonal variation of DNA damage and repair in patients with non-melanoma skin cancer and referents with and without skin cancer. *Mutat Res* 1998; 407: 25-34.
- Office of Technology Assessment. Genetic monitoring and screening in the workplace, OTA, Washington DC. 1990.
- Pelkonen O, Raunio H. Individual expression of carcinogen-metabolizing Enzymes: Cytochrome P4502A. *J Occup Med* 1995;37:19-24.
- Perera FP. Environment and Cancer. Who are Susceptible. *Science* 1997;278:1068-1073.
- Poulsen HE, Loft S, Wassermann K. Cancer risk related to genetic polymorphisms in carcinogen metabolism and DNA repair, *Pharmacol Toxicol* 1993;72(1):93-103.
- Preston RJ. Genetic Susceptibility and Sensitivity to Cancer. CIIT Activities August 1996.
- Risom L. DNA reparation og ældning. Hovedfagsopgave i biokemi 1998. Københavns Universitet.
- Sigsgaard T. Allergi og lungesygdomme i tekstilindustrien. Undersøgelse af respirationsvejslidelser og allergi blandt tekstilarbejdere i bomulds-, uld- og syntetfiberindustrien. København. Arbejds miljøfondet. 1990.
- Stokinger HE, Scheel LD. Hypersusceptibility and genetic problems in occupational medicine - A consensus report, *J Occup Med* 1973;15(7):564-573.
- Van Damme K, Casteleyn L, Heseltine E, Huici A, Sorsa M, Van Larebeke N, Vineis P. Individual susceptibility and prevention of occupational diseases: scientific and ethical issues. *J Occup Environ Med* 1995; 37:91-99.
- WHO. Ecogenetics Genetic predisposition to the toxic effects of chemicals. Ed. P. Grandjean. 1991.
- Zwitter M, Nilstun T, Knudsen LE, Zakotnik B, Klocker J, Bremberg S, Frentz G, Klocker-Kaiser U, Pedersen J. Professional and public attitudes towards unsolicited medical intervention. *Br Med J* 1999; 318:251-253.

KAPITEL 8

Grænseværdier
og grænseværdi-
fastsættelse

*A. Schaich Fries
Leif Simonsen*

Grænseværdier og grænseværdifastsættelse

Det overordnede mål med regulering af stoffer og materialer på arbejdspladsen er, at alle sikres mod udsættelse for sundhedsskadelig påvirkning.

Grænseværdier (GV'er) for udsættelse for skadelige stoffer på arbejdspladsen er anset for et af de vigtigste instrumenter ved forebyggelse af arbejdsbetingede sygdomme. Uden GV'er ville forebyggelse være reduceret til en tilstand karakteriseret af usikkerhed og kaos. Selvom alle eksperter inden for området er klar over, at GV'er på ingen områder er perfekte, er de fleste tilfredse med GV'er, idet de er overbevist om, at hvis nye undersøgelser viser, at der er fare for skadelige effekter, vil GV'er hurtigt blive korrigerede.

Historie

Den tyske alkymist og læge Phillippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, kaldet Paracelsus, skrev i en afhandling i 1583 "Hvad er det, som ikke er gift og intet uden gift. Alene dosis gør, at en ting ingen gift er". Det grundprincip inden for toksikologien, som Paracelsus formulerede, var, at et stofs virkning på organismen er afhængig af den dosis, man giver den pågældende.

Paracelsus siger også, at hvis dosis bliver tilstrækkeligt lille, har stoffet ingen skadelig virkning på organismen. Det er i virkeligheden denne betragtning, som ligger til grund for filosofien for opstilling af grænseværdier.

At betragtningen nok ikke holder i alle tilfælde, skal senere kommenteres. At visse stoffer i arbejdsmiljøet kan skade arbej-

derne, har man kendt til i et par tusinde år. Allerede i oldtiden var bly- og kviksølvforgiftninger kendt, og man havde primitive masker til at beskytte sig mod indånding af skadeligt støv.

Der kan have været forslag eller vedtaget koncentrationer for enkelte stoffer i luften på arbejdspladserne rundt om i verden, som hævdes at repræsentere de første GV'er. Det var imidlertid industrialiseringen fra midten af forrige århundrede, som nødvendiggjorde en mere systematisk arbejderbeskyttelse.

Den hurtigt voksende kemiske industri med produktion af nye syntetiske farvestoffer og andre organiske forbindelser medførte, at de tre største producenter i Tyskland etablerede medicinske nødhjælpsklinikker på fabrikkerne, hvis opgaver også omfattede tiltag til forebyggelse af akutte og kroniske erhvervsmæssige forgiftninger.

Man var tidligt klar over, at selvom det var ønskeligt at undgå kontakt med sundhedsfarlige stoffer, var dette i praksis ikke muligt. Det betød, at man måtte finde frem til, hvilke krav man måtte stille til luften i fabrikslokalerne, for at arbejdernes helbred ikke blev skadet. Disse krav medførte, at det var nødvendigt at have analysemetoder, som gjorde det muligt at måle forureninger i luften.

Den tyske arbejdshygiejniker K.B. Lehmann nævnes som den, der fra 1886 indførte de første GV'er eller tolerancegrænser for nogle organiske opløsningsmidler og irriterende gasser, såsom svovldioxid, halogener og syrerøg. Han introducerede systematiske kemiske analyser på nogle arbejdspladser og sammenlignede de målte koncentrationer med arbejdernes helbred. Han gennemførte også kontrollerede korttidsseksponeringer af forsøgsdyr og frivillige forsøgspersoner.

Lehmann beretter om et af sine forsøg. Han bad sin laboratoriemedhjælper opholde sig i husholderens vaskerum med lukkede døre og vinduer, hvor han indåndede saltsyredampe, som steg op fra en skål. Ved siden af medhjælperens mund var en vaskeflaske med natriumhydroxid. Når koncentrationen af syredampe i rummet begyndte at blive uudholdelig, blev der suget luft gennem vaskeflasken vha en håndbetjent pumpe. Den netop udholdelige koncentration var 0,05‰ (50 ppm). Forsøgspersonen erklærede, at det var absolut umuligt at arbejde i rummet, og bad efter 12 minutter indtrængende om at få lov til at forlade rummet.

”Jeg tror nu gerne, at mere hærdede personer efter en vis tilvænning kan klare endnu højere doser uden alt for store gener, men for længere tids ophold må grænsen være 0,1 til 0,2‰” slutter Lehmann.

Selvom Lehmanns metoder må anses for meget primitive og ikke etisk acceptable at gennemføre i dag, så var han den første,

der systematisk undersøgte den sundhedsskadelige effekt af kemikalier på arbejdspladsen. Lehmann udsendte i 1886 sin første liste over GV'er, som var de første, der var baseret på kvantitative målinger.

Sammen med toksikologien Ferdinand Flury skrev han to håndbøger om skadelige gasser og dampe og "tekniske opløsningsmidler". Disse bøger, som også indeholder GV for en række stoffer, har været banebrydende og har dannet grundlag for den videre udvikling.

I årene mellem 1. og 2. Verdenskrig udsendtes sporadisk lister med grænseværdier for et mindre antal stoffer. Det var imidlertid først i 1940'erne, at der i USA blev introduceret de såkaldte Maximum Allowable Concentrations og senere Threshold Limit Values (TLV), som fik afgørende betydning for udviklingen af grænseværdisystemet i den vestlige verden.

Flere stater i USA havde lister over maksimalt tilladte koncentrationer for en del stoffer. Fra 1943 udsendes centralt (U.S. Public Health Service) en liste med 45 stoffer. I slutningen af 30'erne dannedes ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), som er en sammenslutning af arbejdshygiejnere.

ACGIH nedsatte en særlig komité, som fik til opgave i første omgang at samle materiale om gældende grænseværdier, men pga krigen holdtes der kun få møder, så først i 1946 publicerede ACGIH den første liste med grænseværdier (TLV) for 131 kemiske stoffer og 13 former for mineralsk støv. Siden da har ACGIH hvert år udsendt reviderede og udvidede lister.

I Tyskland nedsattes i 1955 en kommission til undersøgelse af sundhedsskadelige arbejdsstoffer. De første lister over Maximale Arbeitsplatz Konzentrationen (MAK), som kommissionen publicerede, var oversættelse af TLV-listen fra ACGIH. Først fra 1969 har man udsendt årlige MAK-lister på basis af en selvstændig stillingtagen og med værdier, som i mange tilfælde afviger fra TLV-listen.

I Sverige publicerede det svenske Arbejdstilsyn den første officielle liste over "Hygieniska Gränsvärden" i 1974, og man har en såkaldt kriteriegruppe, som udarbejder dokumentation for GV'erne.

I Danmark findes den første grænseværdiliste i "Arbejds- og Socialministeriets Bekendtgørelse af 9. oktober 1945 af Regler for Arbejde med organiske Opløsningsmidler og Produkter indeholdende sådanne". Som bilag til bekendtgørelsen findes en liste over 30 almindeligt forekommende organiske opløsningsmidler med tilhørende koncentrationsangivelser, og listen ledsages af følgende tekst: "Ved Afgørelsen af, om der paa en bestemt Arbejdsplads foreligger Sundhedsfare for et her benyttet organisk

Opløsningsmiddel, kan nedennævnte Værdier for Indaandingsluftens Indhold af de anførte Stoffer være vejledende, idet disse Værdier maa skønnes at være de højeste, som i Almindelighed ikke vil være skadelige ved Indaanding gennem længere Tid.”

Et halvt år efter bekendtgørelsens udsendelse oprettedes i 1946 Fabrikstilsynets Laboratorium. Herved skabtes mulighed for i et vist omfang at få foretaget målinger af luftforureninger på arbejdspladserne, ikke kun af opløsningsmiddeldampe, men også af andre luftforureninger. Man benyttede dengang i stor udstrækning ved vurdering af måleresultaterne de GV'er, som ACGIH publicerede. Dette medførte, at laboratoriet i 1953 på grundlag af ACGIH's liste udarbejdede en dansk liste over "Maksimalt tilladelige koncentrationer" til Arbejdstilsynets eget brug.

I 1965 publiceredes "Kemikalier og sikkerhed", som redigeredes af "Sikkerhedsudvalget for kemiske industrier", en liste over maksimalt tilladelige koncentrationer. Denne liste var udarbejdet i samarbejde med Arbejdstilsynet på grundlag af den seneste ACGIH-liste. Reviderede lister publiceredes med regelmæssige intervaller. Fra 1973 anvendtes betegnelsen hygiejniske grænseværdier (HGV).

Listen i "Kemikalier og sikkerhed" havde med Arbejdstilsynets medvirken ved udarbejdelsen fået halvofficiel status, men samtidig refererede forskellige virksomheder bl.a. i datablade m.m. til andre værdier baseret på ældre eller nyere ACGIH-liste, eller værdier fastsat af andre organer.

Som konsekvens heraf udsendte Arbejdstilsynet i 1976 en officiel liste over hygiejniske grænseværdier. Hermed fik værdierne status af andet og mere end vejledende værdier. Listen revideredes årligt indtil 1979, herefter er den som regel revideret hvert andet år.

I tabel 8.1 er GV for 6 udvalgte stoffer vist for tidsrummet 1945-96. Pga benzens og carbontetrachlorids alvorlige effekter er GV for disse stoffer reduceret kraftigt. Toluen er reduceret med en faktor 4, mens GV for de resterende stoffer kun er lidt reduceret eller uændret.

	1945	1976	1979	1981	1985	1988	1992	1996
Benzen	31,3	10	10	10	5	5	5	0,5
Toluen	53	100	100	100	75	50	50	25
Carbontetrachlorid	15	10	10	2	2	2	2	1
Carbondisulfid	3,1	10	10	5	5	5	5	5
Ammoniak	-	25	25	25	25	25	25	25
Butanol	103	50	50	50	50	50	50	50

Tabel 8.1. Grænseværdier (i ppm) i Danmark for 6 stoffer i årene 1945 til 1996. Som det fremgår af teksten, er der udarbejdet lister i 1953 og 1965, men det har ikke været muligt at fremskaffe disse.

Nordisk Ministerråd besluttede i 1975, at der skulle nedsættes en Nordisk ekspertgruppe for grænseværdidokumentation. Rådet bevilgede fra 1977 midler til et projekt, hvis formål var at fremskaffe og vurdere den foreliggende litteratur mhp at tilvejebringe dokumentationsgrundlag for fastsættelse af grænseværdier.

Dokumenterne publiceres i serien *Arbete og Hälsa*, og samlet er der indtil 1998 udgivet 122 dokumenter.

Siden først i 90'erne har Ekspertgruppen indledt samarbejde med NIOSH (National Institute of Occupational Safety and Health) i USA og den hollandske kriteriegruppe DECOS (Dutch Expert Committee for Occupational Standards). Der skrives et antal fælles kriteriedokumenter, der efter godkendelse i de respektive landes kriteriegrupper anvendes som basis for grænseværdifastsættelse. Samlet er indtil 1998 udgivet 18 dokumenter.

Inden for De Europæiske Fællesskaber vedtoges i 1978 et handlingsprogram om sikkerhed og sundhed på arbejdspladsen, og den første omfattende skitse for lovgivningen om kemiske stoffer på arbejdspladsen blev inkluderet i Rådsk Direktivet 80/1107/EEC, som bl.a. omhandler regulering af anvendelsen af kemiske, fysiske og biologiske agenser på arbejdspladsen.

Direktivet blev ændret ved vedtagelse af Direktiv 88/642/EEC, hvori der lægges vægt på fremgangsmåden for grænseværdifastsættelse for farlige stoffer. Yderligere indeholdes i Rådsk Direktiv 90/394/EEC beslutning om fastsættelse af GV'er for carcinogener.

Indtil slutningen af 1980'erne var der i EF således kun regulering i form af forbud mod anvendelse eller bindende (minimums-) GV'er for et begrænset antal meget farlige stoffer. Fra 1990 steg aktiviteten kraftigt med bl.a. udarbejdelse af sundhedsrelaterede GV'er for en række stoffer. Denne aktivitet omtales udførligt senere i kapitlet.

Som det fremgår af ovenstående, indgår der altid en vurdering af risikoen for sundhedsskadelige effekter ved eksponering i fastsættelse af grænseværdier for eksponering på arbejdspladserne. I EU og en del medlemslande udarbejdes og publiceres grænseværdier, som udelukkende tager hensyn til helbredseffekter, dvs uden at tekniske, økonomiske og sociale forhold er omfattet (Health based Occupational Exposure Limits (OEL)).

Definition af grænseværdi

Lige fra starten har der hersket usikkerhed om definitionen af begrebet grænseværdi. Én definition er, at det repræsenterer, så nøjagtigt som muligt, den koncentration, som lige netop er lav

nok til, at arbejdere udsat for denne koncentration en vis tid undgår funktionelle skader eller skader på organer. En anden definition er, at grænseværdien skal være en koncentration, som er en brøkdel af den koncentration, som vil kunne skade arbejderne, altså en sikkerhedsmargin/faktor indbygget. En tredje definition er, at grænseværdien ud over at leve op til den forrige definition også skal sikre et arbejdsmiljø fri for ubehagelige, generende, men i princippet uskadelige påvirkninger såsom ubehagelig lugt o.l.

Det er klart, at disse definitioner ikke kan tilgodeses med en enkeltværdi. I de først publicerede lister indeholdtes derfor værdier, som repræsenterede alle de anførte definitioner.

I introduktionen til ACGIH's liste angives følgende definition: Grænseværdierne (TLV) angiver koncentrationer af luftforurenninger, som det må formodes, at næsten alle arbejdere kan udsættes for dag efter dag gennem et helt arbejdsliv uden at tage skade af det.

International Labour Organisation (ILO) definerede i 1977 en grænseværdi som "den luftkoncentration af et farligt stof, som, hvis grænseværdierne overholdes, generelt ikke medfører sundhedsskader - inklusive langtidseffekter på afkom - hos arbejdere eksponeret 8 til 10 timer pr dag, 40 timer om ugen. Denne eksponering anses for acceptabel for de myndigheder, som fastsætter grænseværdierne, men det er muligt, at det ikke kan garantere beskyttelse af helbredet hos alle arbejdere, og grænseværdien er derfor ikke en absolut skillelinie mellem uskadelig og skadelige koncentrationer, men tjener alene som en vejledning for forebyggelse".

Forskellige former for grænseværdier

Luftforurening

Langt de fleste grænseværdier er baseret på gennemsnitsværdier over en 8 timers arbejdsdag (tidsvægtet gennemsnit, TWA, Time Weighted Average) i 5 dages arbejdsuge gennem et helt arbejdsliv.

For akut virkende stoffer, hvor en 8 timers TWA ikke yder tilstrækkelig beskyttelse mod fx ubehag, slimhindeirritation, nedsættelse af centralnervesystemets funktion og hjerteffekter, findes korttidsværdier (Short Term Exposure Limits, STEL) for koncen-

trationer, som ikke må overskrides. Tidsperioden er som regel 15 minutter. STEL omtales nærmere på side 235.

Endelig findes loftsværdier (Ceiling Values) for meget akut, stærktvirkende stoffer, som ikke må overskrides på noget tidspunkt.

Biologiske grænseværdier

Biologisk monitoring er måling af en eksponering ved analyse af relevant markør i fx blod eller urin. Sådanne metoder kan omfatte målinger af stoffer, metabolitter eller addukter i biologiske medier, eller måling af ikke-skadelige (non-adverse) biologiske effekter fremkaldt af stoffet.

En biologisk grænseværdi (Biological Limit Value, BLV) kan derfor defineres som den maksimale mængde af et kemisk stof, dets metabolit eller enhver induceret biologisk parameters afvigelse fra det normale i eksponerede personer.

Formålet med biologiske grænseværdier er at forebygge skader på helbredet. Grænseværdierne fastsættes på et niveau, som antages at være så lavt, at sundhedsskader ikke fremkommer.

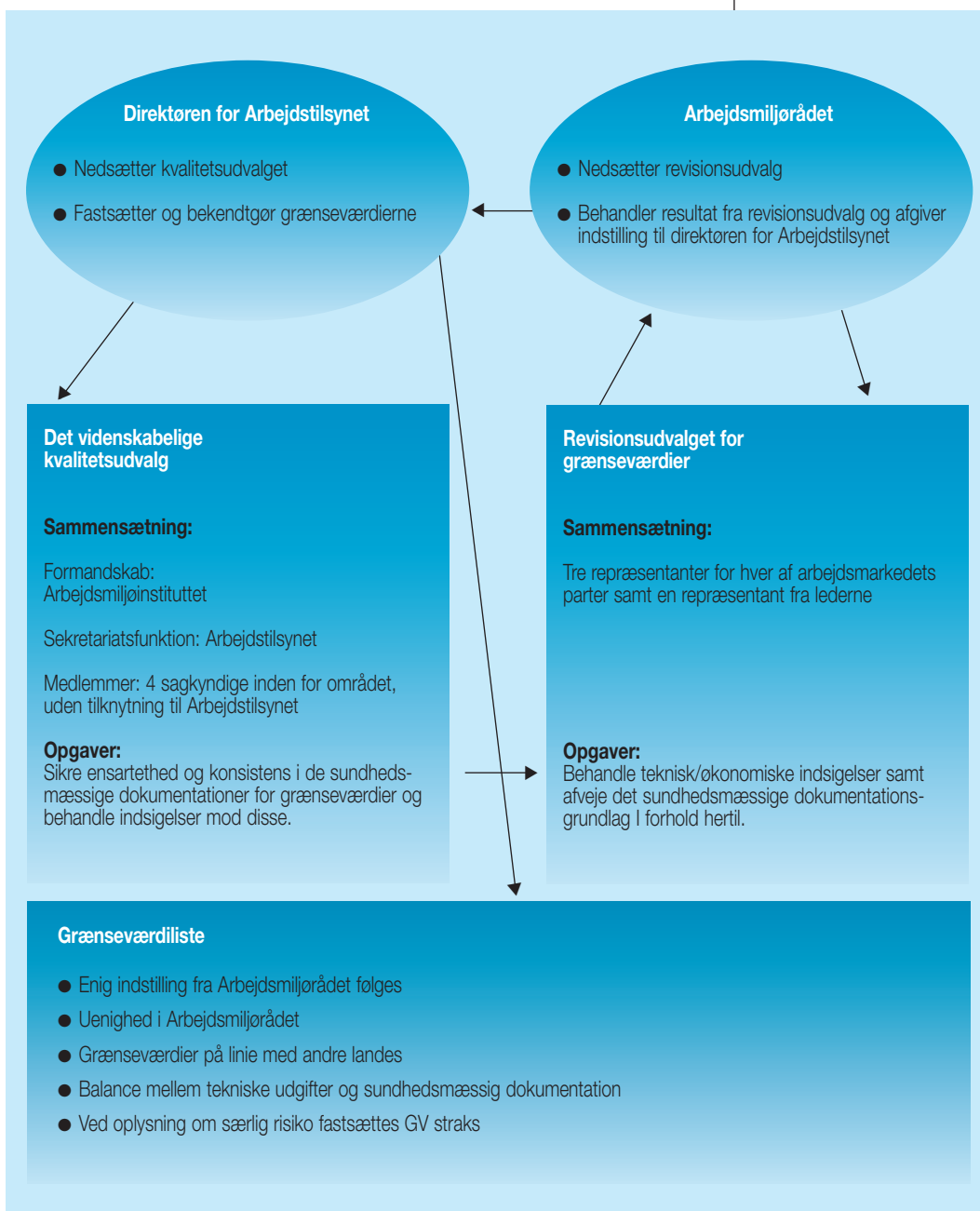
Fastsættelse af grænseværdier i Danmark

Grænseværdier for stoffer og materialer fastsættes og bekendtgøres ifølge §22 i Arbejdsministeriets bekendtgørelse om stoffer og materialer af direktøren for Arbejdstilsynet.

“Det overordnede mål med reguleringen af stoffer og materialer på arbejdspladsen er, at alle sikres mod udsættelse for sundhedsskadelig påvirkning.”

Et af midlerne til at nå dette mål er, at Arbejdstilsynet fastsætter administrative normer for luftforureningen mv i form af grænseværdier (GV) for en række stoffer og materialer, hvor der foreligger dokumentation for, at de er sundhedsskadelige. Grænseværdien udtrykker værdien for stoffets gennemsnitskoncentration i løbet af en 8 timers arbejdsdag, men omfatter herudover også korttidsværdier og loftsværdier. Der henvises til At-anvisningen for grænseværdier nr. 3.1.0.2 af december 1996, hvoraf grænseværdibegrebet nærmere fremgår.

Proceduren for grænseværdifastsættelse er illustreret i fig. 8.1. I proceduren indgår et videnskabeligt kvalitetsudvalg, et revisionsudvalg for grænseværdier, Arbejds miljørådet og Arbejdstilsynet.



Figur 8.1. Procedure for fastsættelse af grænseværdier i Danmark.

Det videnskabelige kvalitetsudvalg er et udvalg, nedsat af direktøren for Arbejdstilsynet, med sagkyndige inden for området uden tilknytning til Arbejdstilsynet og arbejdsmarkedets parter. Arbejdsmiljøinstituttet har formandskab i udvalget. Arbejdstilsynet har sekretariatsfunktion. Udvalget har til opgave at sikre en ensartethed og konsistens i de sundhedsmæssige dokumentationer for grænseværdier og behandle indsigelser mod disse. Resultaterne af udvalgets vurderinger er offentligt tilgængelige.

Revisionsudvalget for grænseværdier er et udvalg, nedsat af Arbejdsmiljørådet. Udvalget er sammensat af tre repræsentanter fra hver part samt en repræsentant fra lederne. Udvalget har til opgave at behandle teknisk/økonomiske indsigelser samt at afveje det sundhedsmæssige dokumentationsgrundlag i forhold hertil (effekt/omkostninger). Til behandlingen af indsigelser af teknisk/økonomisk art har udvalget tilknyttet ad hoc udvalg. Revisionsudvalget for grænseværdier indstiller resultatet af behandlingen til Arbejdsmiljørådet.

Arbejdsmiljørådet behandler resultatet fra revisionsudvalget for grænseværdier og afgiver til direktøren for Arbejdstilsynet en indstilling, hvoraf det fremgår, om parterne er enige eller uenige i forslag til grænseværdier.

Direktøren for Arbejdstilsynet fastsætter og bekendtgør grænseværdierne efter følgende retningslinier:

- ◆ I tilfælde af enighed i Arbejdsmiljørådet vil direktøren normalt følge de indstillede forslag til en grænseværdi.
- ◆ I tilfælde af uenighed i Arbejdsmiljørådet fastsætter direktøren grænseværdier med udgangspunkt i følgende kriterier:
- ◆ Grænseværdien bør som hovedregel ikke være strengere end i de lande, Danmark normalt kan sammenlignes med. Dvs først og fremmest de nordiske lande, men også Tyskland og USA.
- ◆ Oplysninger om betydelige meromkostninger som følge af grænseværdiændringen for de berørte virksomheder må sammenholdes med tvivl om den medicinske dokumentation.
- ◆ I særlige tilfælde kan direktøren for Arbejdstilsynet fastsætte grænseværdier, uden at den generelle procedure følges, når der foreligger oplysninger om en særlig risiko ved stoffernes anvendelse.

Forløb

Udgangspunktet for fastsættelse og revision af grænseværdier er som hovedregel en videnskabelig dokumentation fra EU (SCOEL (Scientific Committee for Occupational Exposure Limits)), USA

(ACGIH, NIOSH, OSHA), Tyskland (MAK), Holland (DECOS), nordiske lande, den nordiske ekspertgruppe (NEG) og Arbejdstilsynets egen dokumentation, herunder erfaringer fra danske arbejdspladser. Derudover er der mulighed for at indsende skriftligt dokumenterede forslag, som alle behandles.

Arbejdstilsynet udsender på baggrund af ovennævnte til Arbejds miljørådets medlemmer forslag til nye og reviderede grænseværdier, angivet med et konkret tal.

Forslag, der bygger på vedtagne amerikanske (ACGIH) og tyske (MAK) grænseværdier samt anbefalinger fra SCOEL, skal som udgangspunkt ikke diskuteres. Teknisk/økonomiske konsekvenser heraf kan tages op i det omfang, én af parterne måtte ønske en behandling.

Forslag, der har et andet grundlag, fx AT's egen dokumentation, skal, når de fremsendes til Arbejds miljørådets medlemmer, være forsynet med et sundhedsmæssigt dokumentationsgrundlag, vurderet af kvalitetsudvalget. Det samme gælder, såfremt der forekommer væsentlige afvigelser imellem amerikanske (ACGIH) og tyske (MAK) ændringer og anbefalinger fra SCOEL.

Dokumentationsgrundlaget bør som minimum have samme form og indhold som SCOEL's resumé for en grænseværdi, med fremhævelse af de væsentligste referencer.

Alle kan inden for en frist på højst 6 måneder meddele direktøren en begrundet indsigelse mod de teknisk/økonomiske konsekvenser. Samme frist for indsigelser gælder for det sundhedsmæssige dokumentationsgrundlag, for så vidt angår de dokumentationer, der ikke bygger på de nævnte vedtagne amerikanske (ACGIH), tyske (MAK) grænseværdier og anbefalinger fra SCOEL. Til brug for de teknisk/økonomiske indsigelser er der udarbejdet et skema til indsamling af virksomhedsdata.

En begrundet skriftlig indsigelse mod det sundhedsmæssige dokumentationsgrundlag behandles med en frist på normalt 3 måneder af kvalitetsudvalget.

Begrundede indsigelser af teknisk/økonomisk art og afvejning af det sundhedsmæssige dokumentationsgrundlag i forhold hertil behandles i revisionsudvalget for grænseværdier med en frist på normalt 5 måneder, inkl. fremsendelse af forslag til Arbejds miljørådet.

Arbejds miljørådet afgiver på den baggrund en indstilling til direktøren for Arbejdstilsynet.

Direktøren for Arbejdstilsynet fastsætter og bekendtgør grænseværdier i en grænseværdiliste, senest ved udgangen af hvert andet år, med en ikrafttrædelsesperiode på normalt 6 måneder.

Procedures varighed er ca 1 år. Efter behov kan proceduren gentages inden for 2-års perioden for listens seneste udgivelse.

Grænseværdier i EU

I EU findes bindende grænseværdier og retningsgivende grænseværdier.

Bindende grænseværdier vedtages af Ministerrådet efter behandling i såvel det økonomiske og sociale udvalg som i Europaparlamentet. Disse grænseværdier, som er fastsat på grundlag af såvel helbredsmæssige som økonomiske og sociale overvejelser, er værdier, som medlemslandene skal indføre som minimumskrav i den nationale lovgivning.

Retningsgivende (indikative) grænseværdier vedtages af Europakommissionen, efter at den har hørt et udvalg bestående af nationale (regerings-) eksperter fra medlemslandene. Indikative grænseværdier afspejler ekspertvurdering baseret på videnskabelige data.

Medlemslandene skal inddrage de indikative værdier, når de vedtager nationale regler og lovgivning for arbejderbeskyttelse.

Europakommissionen konkluderede sidst i 1980'erne, at hvert medlemsland anvendte sin egen grænseværdiliste, og at proceduren for fastsættelse af grænseværdier varierede meget i de forskellige lande. Tidligere forsøg på at opnå enighed om fælles værdier for en række stoffer var ikke lykkedes. Målet var at harmonisere grænseværdier som en del af processen frem mod Det indre Marked. Kommissionen foreslog derfor en ny procedure for "at starte igen", gennemgå litteraturen og udarbejde nye grænseværdier.

På opfordring fra Ministerrådet nedsatte Kommissionen derfor i 1990, efter at have gennemgået proceduren for grænseværdifastsættelse i de forskellige lande, et ad hoc udvalg (Scientific Expert Group, SEG) til at være rådgivende om grænseværdifastsættelse.

I 1995 vedtog Kommissionen et fælles program om Sikkerhed, hygiejne og sundhed på arbejdspladsen 1996-2000. I programmet understreges nødvendigheden af yderligere aktivitet inden for grænseværdiområdet. Derfor blev SEG formaliseret og fik navnet Scientific Committee for Occupational Exposure Limits to Chemical Agents (SCOEL). Den store interesse for udvalgets arbejde og dets stigende indsats kan ses som en opmuntrende accept af udvalgets arbejde. Ved at formalisere udvalget har Kommissionen anerkendt det udførte arbejde og fremmet dets rolle i den europæiske proces, "at bidrage til målet om at harmonisere arbejdsmiljøet", som det fremgår af Artikel 118A.

Selvom proceduren tager sin tid, har samling af videnskabelige medlemmer i et udvalg allerede haft sin indflydelse på diskussionen i de nationale udvalg for GV.

SCOEL består af højst 21 medlemmer, der kommer fra alle medlemslande, og som dækker hele det område af videnskabelig ekspertise, der er nødvendigt for at opfylde dets mandat, herunder navnlig kemi, toksikologi, epidemiologi, arbejdsmedicin og arbejdshygiejne og generel viden mht fastsættelse af grænseværdier på arbejdspladsen.

Kommissionen udnævner medlemmerne af udvalget efter høring af de pågældende medlemslande og under hensyntagen til behovet for at sikre, at de forskellige fagområder dækkes.

SCOEL's funktion er udelukkende at arbejde som videnskabelige rådgivere og ikke som repræsentanter for medlemslande. Deres rådgivning skal alene baseres på videnskabelig evidens, og udvalget skal i videst mulig omfang bestræbe sig på at nå til enighed om de anbefalinger, som udvalget fremsætter. Hvis der ikke opnås enstemmighed, udarbejdes under ansvar af Kommissionens repræsentanter en rapport. I de 9 år, SEG og SCOEL har fungeret, er alle fremsatte anbefalinger sket i enighed.

Procedure for udarbejdelse af grænseværdier i EU

Overordnet procedure

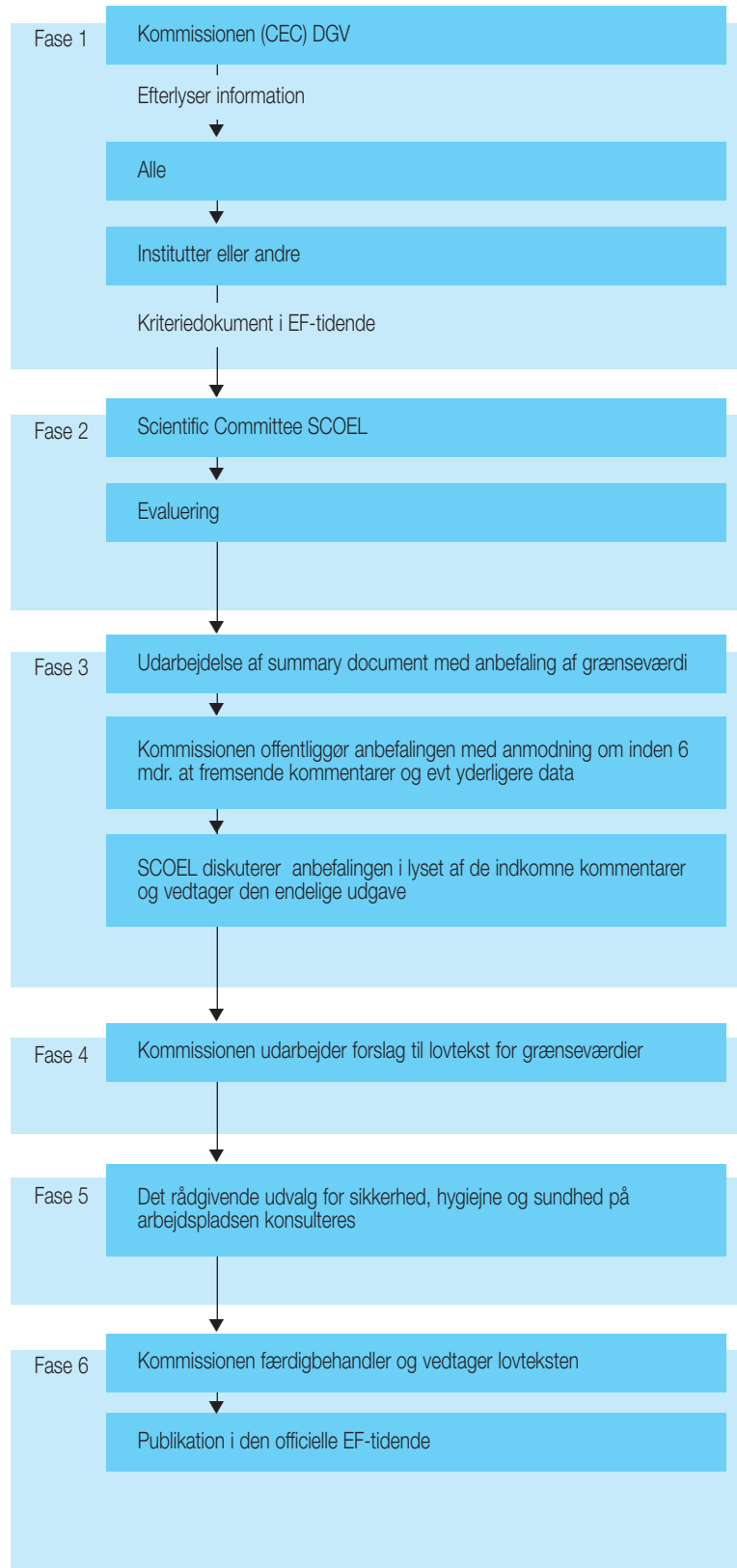
Den faglige kvalitet og troværdigheden af SCOEL's anbefalinger er hjørnестenen i lovforslag fra Kommissionen om fastsættelse af grænseværdier.

Det blev hurtigt klart, at det vil have stor betydning at få frem til en godkendelsesprocedure, som alle parter kan acceptere. En sådan procedure vil fremme Kommissionens arbejde, og det vil reducere eller endog eliminere negativ faglig kritik af SCOEL's anbefalede grænseværdier. Kommissionen har derfor i 1994 vedtaget et internt arbejdsdokument (Guidance note) efter forhandlinger med Det rådgivende udvalg for sikkerhed, hygiejne og sundhed på arbejdspladserne. Udvalget er et trepartsudvalg med repræsentanter fra medlemslandenes regeringer og fra arbejdsmarkedets parter.

I arbejdsdokumentet beskrives alle trin for fastsættelse af grænseværdier i EU-regi. Det indeholder beskrivelse af den procedure, der skal følges, om hvad og hvornår de interesserede parter (regeringer, arbejdsmarkedets parter og andre relevante organisationer) kan yde deres bidrag.

De forskellige stadier er vist i fig. 8.2. De første 3 faser omfatter hovedsagelig SCOEL's faglige vurdering, mens de sidste 3 faser mere omfatter Kommissionens arbejde og forhold af ikke sundhedsmæssig karakter, som bør overvejes.

Figur 8.2. Forløbet i udarbejdelsen af vejledende (indikative) grænseværdier.



Fase 1

I fase 1 samler Kommissionen videnskabeligt dokumentationsmateriale. Det valgte dokumentationsgrundlag, oftest i form af et kriteriedokument, offentliggøres i De Europæiske Fællesskabers Tidende med anmodning om, at yderligere data, specielt ikke-publicerede, sendes til Kommissionen for at sikre et så komplet datamateriale som muligt.

Fase 2

SCOEL starter sit arbejde i fase 2 med at vurdere dokumentationsmaterialet fra forskellige kilder. Dette arbejde, som senere beskrives detaljeret, leder frem til en evaluering.

Fase 3

I denne fase beskrives de kritiske sundhedseffekter og de centrale undersøgelser i et kortfattet dokument (Summary document), som fører frem til anbefalede grænseværdier. Anbefalingen motiveres og er underbygget og forklares med oplysninger, såsom de tilgrundliggende data, beskrivelse af den kritiske effekt, de anvendte ekstrapoleringsteknikker og alle data om mulige risici for helbredsskader hos mennesker. De tekniske og analytiske muligheder for måling af eksponeringen oplyses også. SCOEL har endvidere besluttet at påpege, hvis der er manglende data, og hvis der er behov for yderligere undersøgelser.

Når Summary-dokumentet er vedtaget i SCOEL, offentliggøres det af Kommissionen til interesserede parter med anmodning om sundhedsbaserede videnskabelige kommentarer eller evt om yderligere data. Efter en høringstid på ca 6 måneder diskuterer SCOEL igen dokumentet i lyset af de fremsendte høringsbemærkninger og vedtager den endelige udgave, som derefter publiceres af Kommissionen.

Fase 4

Når Kommissionen har modtaget SCOEL's anbefaling for grænseværdier, kan den udarbejde forslag til grænseværdier.

I denne fase vil Kommissionen, afhængigt af hvilken type grænseværdi (sundhedsbaseret, indikativ eller pragmatisk/bindende), indhente relevante tekniske, økonomiske og sociale data. Hvis nogle af interesseorganisationerne er bekendt med sådanne data, som kan vise sig at være relevante ved udarbejdelse af forslaget, bør de gøre Kommissionen bekendt hermed.

Fase 5

Kommissionens forslag til lovtækt sendes til Det rådgivende udvalg for sikkerhed, hygiejne og sundhed på arbejdspladsen. I denne fase har alle interesseorganisationer muligheder for gen-

nem udvalget at øve indflydelse på udvalgets udtalelse. Denne udtalelse er tilgængelig gennem referater fra udvalgs møder samt i udvalgets årsrapport.

Fase 6

Så snart disse konsultationer er gennemført, kan Kommissionen færdigbehandle forslaget med efterfølgende vedtagelse. Afhængigt af hvilken type grænseværdier og den valgte lovgivningsprocedure vil yderligere konsultationer om Kommissionens forslag inden for relevante EU-institutioner foregå inden endelig vedtagelse og publikation i den officielle EF-tidende.

Erfaringen fra denne fremgangsmåde ved udarbejdelse af grænseværdier har vist, at en for medlemslandene og arbejdsmarkedets parter gennemskuelig proces er en god fremgangsmåde, selvom ikke alle anbefalinger fra SCOEL modtages som velkomne af alle interesserede parter. I den forbindelse skal det påpeges, at den primære opgave for SCOEL er at udarbejde sundhedsbaserede grænseværdier.

Kriteriedokumenter

Gode videnskabelige data er nødvendige for fastsættelse af grænseværdier. Til hjælp ved vurderingen af stoffer mhp grænseværdifastsættelse er det vigtigt, at de kriteriedokumenter, der anvendes, indeholder en komplet, men kortfattet gennemgang af alle relevante data.

For at lette arbejdet ved vurderingen af de enkelte stoffer er der udarbejdet en vejledning for forfattere af kriteriedokumenter. Kommissionen har udgivet vejledningen (EUR 13 776 EN), hvori ønsket struktur og indhold af et kriteriedokument er beskrevet. Herved fremmes udveksling af dokumenter mellem lande i såvel Europa som udenfor, således at dobbeltarbejde i denne forskningsintensive og tidskrævende aktivitet kan undgås. I tabel 8.2 vises strukturen for kriteriedokumenter.

Key-documents

Det blev i SCOEL's arbejde hurtigt klart, at det var nødvendigt at diskutere grundprincipperne for kriterierne ved grænseværdifastsættelse i detaljer, idet nationale videnskabelige udvalg har anvendt forskellige principper ved udarbejdelse af grænseværdier. Dette skyldes dels påvirkning af historisk karakter og dels forskellig lovgivning.

SCOEL betragtede disse forskelle og startede frugtbare diskussioner om disse principper og kriterier for at kunne opfylde kravene i EU-lovgivningen. Som et resultat heraf er udarbejdet:

1. Stofidentifikation:	CAS, EINES, EEC, synonymer, handelsnavne, kemisk struktur
2. Kemiske og fysiske egenskaber:	Koetryk, damptryk samt omregningsfaktorer og lugtgrænse
3. Forekomst:	I miljøet fra natur- og industrielle kilder
4. Produktion og anvendelse:	Væsentligste anvendelser industrielt, produkter, mængder mv
5. Data om eksponering og optagelse:	Erhvervsmæssig eksponering, koncentration i biologiske medier, i udeluft og i vand
6. Måleteknik og analyse:	Opsamlingsteknik og analysemetoder, koncentrationer målt i biologiske medier
7. a) Toksikokinetik:	Absorption, distribution, biotransformation og udskillelse i dyr og mennesker
b) Toksikodynamik:	Alle akutte og kroniske effekter i dyr og hos mennesker efter engangs- og ved gentagen eksponering
8. Manglende data	
9. Grupper, som er ekstra udsatte:	Personer med tilstedeværende lidelser og sygdomme, genetisk følsomhed osv
10. Gældende grænseværdier:	I EU og resten af verden. Diskussion af de tilgrundliggende dokumentationer
11. Sammenfattende vurdering og anbefaling af videnskabeligt baseret grænseværdi:	Sammenfatning og begrundet anbefaling af grænseværdi
12. Detaljeret litteraturliste	

Methodology for the Derivation of Occupational Exposure Limits: Key documentation.

De udarbejdede key-documents ses i tabel 8.3.

Da EU-fastsatte grænseværdier allerede i stor udstrækning er basis for fastsættelse af grænseværdier i medlemslandene, vil de key-documents, som SCOEL indtil nu har udarbejdet, blive gennemgået.

Det har været ønsket, at disse key-documents blev publiceret. Det er imidlertid klart, at dels kan alle aspekter ikke blive diskuteret på én gang, og dels at udviklingen inden for videnskaben medfører hurtige ændringer. Det betyder, at SCOEL også i fremtiden vil følge denne dynamiske proces og vil gå videre med diskussioner om andre centrale principper ved grænseværdifastsættelsen.

Lovgivningsmæssig baggrund

I forbindelse med vedtagelse af Rådets direktiv 88/642/EØF, der ændrede direktiv 80/1107/EØF om beskyttelse af arbejdstagere mod farerne ved at blive eksponeret for kemiske, fysiske og biologiske agenser under arbejdet, opfordrede Rådet som tidligere nævnt Kommissionen til at oprette et videnskabeligt udvalg, der

Tabel 8.2. Struktur for kriteriedokumenter for grænseværdier for erhvervsmæssig eksponering.

1. Lovgrundlag
2. Formål og sigte med grænseværdier
3. Generelle principper
4. Grænseværdier for 8-timers tidsvægtet gennemsnitskoncentration (TWA)
5. Korttidsgrænseværdier
6. Usikkerhedsfaktorer og deres anvendelse
7. Reproduktionstoksicitet
8. Vurdering af kemiske carcinogener
9. Luftvejssensibiliserende stoffer
10. Strategi for anvendelse af "hud"-notation for optagelse gennem huden
11. Sundhedsbaserede biologiske grænseværdier (BLV)
12. Vurderingskriterier for humane neurotoksicitetsstudier

Tabel 8.3. Key-documents, som beskriver SCOEL's fremgangsmåde ved udarbejdelse af grænseværdier (OEL).

skal være ansvarligt for evalueringen af de foreliggende videnskabelige data, der skal anvendes til fastsættelse af grænseværdier for kemiske stoffer.

I direktivet angives to typer af grænseværdier: bindende grænseværdier og indikative grænseværdier (ILVs).

Det uvildige videnskabelige ekspertudvalg (SEG), som Kommissionen siden 1990 konsulterede, ændredes som tidligere nævnt til et formelt udvalg (SCOEL) i 1995 (95/320/EEC). Fra starten har udvalgets væsentligste funktion været at gennemgå relevant videnskabelig dokumentationsmateriale, sædvanligt i form af kriteriedokumenter om kemiske stoffers toksikologiske og andre relevante egenskaber og at anbefale grænseværdier til Kommissionen.

SCOEL skal forsøge at bestemme det højeste eksponeringsniveau, hvor det vurderes, at man kan have tillid til, at der ikke opstår sundhedsskader. Denne slags SCOEL-rekommandationer har Kommissionen foreslået medlemslande at indføre som fremtidige grænseværdier.

Hvor der ikke kan bestemmes et pålideligt "no effect level" for eksponering, fx for genotoksiske eller sensibiliserende stoffer, anmodes SCOEL om at forsøge at vurdere risikoen for sundhedsskader ved bestemte eksponeringsniveauer. Disse indgår ved udarbejdelse af Kommissionens forslag til bindende grænseværdier. Ud over anbefalinger for grænseværdier for luftkoncentrationer anmodes udvalget også om udtalelse om andre relaterede risikohåndteringsiltag såsom hudnotation for hudoptagelse og biologiske grænseværdier.

Siden begyndelsen af 1990'erne har SEG/SCOEL gransket kriteriedokumenter og rådgivet Kommissionen om risikovurderinger om forhold, som er fremkommet i forbindelse hermed. Kriterie-

dokumenterne er tilvejebragt enten fra nationale grænseværdifastsættelser eller fra grupper af medlemslande (DECOS, Holland; Nordisk Ekspertgruppe; WATCH (Working group on the Assessment of Toxic Chemicals), England; MAK, Tyskland) eller dokumenter udarbejdet af europæiske institutter som kontakttarbejde for Kommissionen.

Formål og sigte med grænseværdier (OELs)

Grænseværdier fastsat af EC vil falde inden for to kategorier afhængigt af den tilgrundliggende videnskabelige basis, hvorpå de er udarbejdet.

”Sundhedsbaserede” grænseværdier. En grænseværdi af denne type kan udarbejdes i de tilfælde, hvor en gennemgang af alle tilgængelige videnskabelige data fører til konklusionen, at det er muligt klart at bestemme en dosis, under hvilken eksponering for pågældende stof ikke forventes at medføre sundhedsskader.

”Pragmatiske” grænseværdier. For nogle sundhedsskadelige effekter (specielt genotoksicitet, carcinogenicitet og luftvejssensibilisering) er det ikke muligt med den nuværende viden at definere en tærskelværdi. I sådanne tilfælde må det antages, at ethvert eksponeringsniveau, selvom det er lavt, vil indebære en begrænset risiko. Grænseværdier for sådanne stoffer må derfor fastsættes pragmatisk. Disse grænseværdier fastsættes på niveauet, som anses for at indebære tilstrækkelig lav risiko.

Grænseværdier inden for EC vil som nævnt falde ind i en af de to kategorier, og i dokumentationen vil det klart fremgå, hvilken kategori grænseværdien falder inden for.

Generelle principper

Målet med rådsdirektivet 80/1107/EC er ”Beskyttelse af arbejdere mod sundhedsskader ved eksponering for kemiske, fysiske og biologiske agenser, som anses for farlige”.

I forbindelse med grænseværdifastsættelse er det muligt at omsætte dette mål i beskrivelse af ”sundhedsbaseret” grænseværdi.

Effekter, som fremkommer ved stigende eksponering for kemiske stoffer, kan betragtes som et kontinuum:

1. Ingen observerede effekter
2. Kompensatoriske effekter eller tidlige effekter af usikker signifikans uden sundhedsskader
3. Tidlig helbredspåvirkning (klare sundhedseffekter)
4. Sygdom, muligvis død.

Effekter, som kan anses for ”adverse”, ligger mellem 2 og 3.

Det er SCOEL's intentioner først at bestemme, hvilke effekter en eksponering med det pågældende stof kan medføre, og der-

efter beslutte (og forklare i dokumentationen som understøtter anbefalingen af grænseværdien), hvilke effekter der anses for "adverse". Dette kræver en fuldstændig gennemgang af den tilgængelige toksikologiske database inklusive enhver effekt, som kan forekomme hos arbejdstagernes afkom.

SCOEL anser, at den brede definition af sundhedseffekter (adverse effects on health) inkluderer gener (nuisance). Udarbejdelse af kriterier for gener anses ofte for vanskelig, fordi oplevet gene er af subjektiv natur. Mange kemiske stoffer har imidlertid lokalirriterende effekter på øjenslimhinder og på luftvejene varierende fra ubetydelige til alvorlige.

Ligesom for systemiske helbredseffekter kan effekterne af irriteranter betragtes som et kontinuum:

1. Ingen effekter observeret, ingen opfattelse af eksponering
2. Meget lette effekter, eksponering opfattes
3. Lette irritative effekter eller gener (fx lugt), let at udholde
4. Udtalt irritation/gene, klare sundhedseffekter, kun lige udholdeligt
5. Alvorlig sundhedseffekt (fx lungeødem), uudholdeligt.

SCOEL anser øjengener og gener i næse og svælg, nedsat præstation og hovedpine som "adverse" effekt på sundhed og velvære. Effekter, som opfylder kriterierne for gener, ligger mellem 2 og 3 på ovenstående kontinuum. Ved grænseværdifastsættelse bør der ikke skelnes mellem irritative gener og de somatiske sundhedseffekter, som tidligere er beskrevet, selvom SCOEL vil forsøge at skelne mellem gener og oplevelse af eller opmærksomhed på eksponering (fx lugt).

Generel procedure for fastsættelse af grænseværdier

SCOEL bruger "case by case" ved fastsættelse af grænseværdier, idet hvert stof behandles individuelt. Hvor det er muligt, vil SCOEL bestræbe sig på at fastsætte en sundhedsbaseret grænseværdi ved at følge nedenstående procedure:

- ◆ Samle alle tilgængelige data om stoffets farlighed. Disse omfatter oplysninger om humane, dyreeksperimentelle og andre eksperimentelle data, såvel som baggrundsdata (fysisk-kemiske egenskaber), som er relevante for fastsættelse af en grænseværdi.
- ◆ Fastslå, om databasen er tilstrækkelig til at kunne fastsætte en grænseværdi.
- ◆ Bestemme, hvilke uønskede effekter der kan fremkomme ved eksponering.

- ◆ Fastsætte, hvilken eller hvilke sundhedsskadelige effekter der er afgørende for at nå frem til niveauet for grænseværdien.
- ◆ Bestemme de relevante undersøgelser i dyr eller mennesker, som karakteriserer de kritiske effekter. Dette kræver meget grundig gennemgang af kvaliteten af disse undersøgelser.
- ◆ Fastslå, om stoffet virker via en "ikke-tærskelmekanisme", eller om en konventionel toksikologisk model anvendes. Hvor ikke-tærskelmekanismer indgår, anser SCOEL ikke, at en sundhedsbaseret grænseværdi kan fastsættes, og dette fører til udarbejdelse af pragmatisk baseret grænseværdi.
- ◆ For hver kritisk effekt vurderes dosis respons/effekt data. "No observed adverse effect levels (NO(A)ELS)" fastslås, hvor det er muligt, og hvis ikke det er det, fastsættes "lowest observed adverse effect levels (LO(A)ELS)".
- ◆ Beslutte, om en grænseværdi for korttidseksponering (STEL) er påkrævet ud over den 8-timers tidsvægtede (TWA).
- ◆ Fastsætte en numerisk værdi for TWA på eller under NO(A)EL, eller, hvis dette ikke er muligt, under LO(A)EL, idet der indlægges en usikkerhedsfaktor.
- ◆ Fastsætte en numerisk værdi for STEL (hvis dette er påkrævet).
- ◆ Dokumentere den fulde proces, således at der er en logisk og klar begrundelse for grænseværdien.

Som det er anført ovenfor, er den første fase i grænseværdi-udarbejdelsesprocessen indsamlingen af alle tilgængelige oplysninger om stoffets farlighed og beslutning om, hvorvidt oplysningerne danner et dokumentationsgrundlag, som er tilstrækkeligt til, at man kan gå videre i processen. Generelt er det sådan, at jo flere relevante informationer, jo større troværdighed kan der lægges i grænseværdien, men det er ikke altid tilfældet. Foreligger der adskillige undersøgelser, der giver modstridende resultater, kan det resultere i en situation, som er mere forvirret end afklaret.

Relevante data bør indeholde følgende væsentlige elementer:

- ◆ information om ikke-tærskelværdieffekter
- ◆ information om langtidseffekter og effekter af gentagne eksponeringer med passende eksponeringsvej inklusive dosis/respons/effekt relationer
- ◆ information om målorgan(er) og de effekter, som kan fremkomme
- ◆ information om korttids- (akut) effekter (effekter ved en enkelt eksponering)
- ◆ information om metoder til måling af luftkoncentrationer.

Disse oplysninger er nødvendige for at kunne beslutte, om en konventionel (tærskelværdi) toksikologisk model kan anvendes, og om et troværdigt NOAEL kan eller ikke kan bestemmes.

Informationer om kinetikken for absorption, distribution, metabolismisering og udskillelse (med speciel opmærksomhed på akkumulering) er ønsket, men kan ikke altid opnås.

Informationer kan stamme fra observationer hos mennesker, fra dyreforsøg og fra laboratorieundersøgelser.

Humane data

Generelt har data fra gode humane studier større præference end data fra dyreundersøgelser, men enten findes de ikke, eller de er videnskabeligt utilstrækkelige. Humane data falder stort set inden for en af følgende fire kategorier:

- ◆ individuelle case rapporter
- ◆ undersøgelser på forskellige forsøgspersoner
- ◆ tværsnitsstudier
- ◆ kohorte- og case-kontrol studier.

Bortset fra 2. kategori, frivillige forsøgspersoner, lider humane studier af, at de er dårligt beskrevne mhp eksponering, og at klare dosis-respons/effekt relationer sjældent kan påvises. Den vægt, der lægges på humane studier ved grænseværdifastsættelse, afhænger af sundhedsskadens art og kvaliteten af undersøgelserne specielt i relation til dosis-respons/effekt oplysningerne.

Case rapporter kan være nyttige ved påvisning af sammenhæng mellem eksponering med et givet stof og en specifik helbredsskade. Sådanne rapporter kan ikke danne basis for fastsættelse af grænseværdier, men jo flere rapporter, der peger på samme sammenhæng, jo større er behovet for yderligere undersøgelser.

Vel gennemførte undersøgelser på frivillige forsøgspersoner kan være anvendelige, hvor den kritiske effekt hænger sammen med korttids- (akut) eksponering, fx påvirkning af centralnervesystemet og slimhindeirritation.

Tværsnitsundersøgelser kan også være nyttige ved bestemmelse af eksponerings-effekt relationer og kan indikere behovet for yderligere undersøgelser. I nogle tilfælde, hvor undersøgelserne er vel gennemførte og velrapporterede, og specielt hvor eksponering er vel karakteriseret, kan de anvendes ved bestemmelse af NOAEL.

Case kontrol, historiske kohorter eller longitudinale prospektive studier kan være af særlig værdi, hvor den sundhedsskadelige effekt har sammenhæng med gentagne eksponeringer eller langtidseksponering. Sådanne undersøgelser repræsenterer den ene-

ste måde til at undersøge langtidseffekter i mennesker på, og vel gennemførte studier kan bidrage med stærk evidens, specielt hvor sundhedsskaden er klart defineret, eksponering velkarakteriseret, og potentielle bias og confounding faktorer er vel kontrollerede.

Data fra dyreforsøg og fra laboratorieundersøgelser

I mange tilfælde vil humane data enten ikke findes, eller de vil være utilstrækkelige. I sådanne tilfælde er det nødvendigt at overveje at fastsætte en grænseværdi på basis af data fra dyreforsøg.

Dyreforsøg har den store ulempe, at resultaterne stammer fra en anden art end mennesket. Praktiske forhold gør, at antallet af dyr, der indgår, er begrænset, hvilket indebærer, at gruppestørrelsen i dyreforsøg er langt mindre end de antal, der indgår i mange humane kohortestudier. Ikke desto mindre har dyreforsøg klare fordele, specielt mht god karakterisering af eksponering, tilstrækkelige kontrolgrupper, omfattende patologiske undersøgelser og mulighed for at bestemme en klar dosis-respons/effekt sammenhæng. SCOEL anser, at velgennemførte dyreforsøg kan udgøre grundlaget for fastsættelse af en sundhedsbaseret grænseværdi i tilfælde, hvor humane data ikke foreligger, eller hvor de er utilstrækkelige.

Ved fastsættelse af sundhedsbaseret grænseværdi er det nødvendigt at have tilstrækkelige oplysninger om både akutte og kroniske effekter. Oplysninger fra dyreforsøg kan inddeles i to kategorier, som kan henføres til forskellige aspekter i grænseværdifastsættelsesprocessen.

- ◆ Data fra gentagne eksponeringer. Resultater fra undersøgelser, hvor der er anvendt gentagne eksponeringer, er nødvendige for at få oplysninger om mulige skader, som kan opstå ved langtidseksponering. Effekternes art er bestemmende for, over hvor lang tid undersøgelsen skal løbe. I nogle tilfælde kan en 28 dages undersøgelse være tilstrækkelig, men i de fleste tilfælde vil 3 til 6 måneder eller endog længere være påkrævet. Undersøgelser, hvor eksponering foregår ved inhalation, er klart at foretrække.
- ◆ Data fra engangseksponering. Akutte inhalationsundersøgelser kan være nyttige, hvor det drejer sig om korttidseffekter. Undersøgelserne tillader at beskrive dosis-respons/effekt relationer, og de er specielt anvendelige, hvor der skal fastsættes en STEL-værdi. LD₅₀ og LC₅₀ som sådan anses for værdiløse i denne sammenhæng.
- ◆ Eksponering. Undersøgelser, hvor eksponeringen sker ved inhalation, er klart at foretrække, men i mange tilfælde findes

der for gentagne eksponeringer kun data fra oral administration. Hvis en grænseværdi skal baseres tilfredsstillende på basis af sådanne data, er det vigtigt, at den kritiske effekt er en systemisk effekt (og ikke lokal), og at velfunderede toksikokinetiske data foreligger. Det er her yderligere nødvendigt at sikre, at lokale effekter på luftvejene er usandsynlige, idet sådanne normalt ikke vil fremkomme ved oral eksponering.

- ◆ Toksikokinetiske data. Oplysninger om kinetikken ved optagelse, fordeling, metabolisme og udskillelse kan være nyttige i mange forhold. Specielt vil data om hudoptagelse være nødvendige, hvor der er behov for en "hud"-notation, og kinetikdata er nødvendige som ovenfor nævnt, hvis en grænseværdi skal fastsættes på basis af oral, gentagen eksponering.
- ◆ Andre oplysninger. I nogle tilfælde kan specielt målrettede undersøgelser være nyttige ved fastsættelse af grænseværdier. Fx kan metabolismestudier have særlig betydning ved undersøgelser af, om en bestemt effekt, der er opstået i én dyreart, men ikke i en anden, er relevant for mennesker.

Anvendelse af struktur-aktivitets relationer anses generelt ikke for en pålidelig metode til at forudsige toksikologiske egenskaber, undtagen hvor der findes en fremtrædende toksikologisk fællesnævner af væsentlig betydning.

Det er nødvendigt at vurdere alle dyreforsøg for at se, om de er tilfredsstillende både mht gennemførelse og rapportering. Det skal vurderes, om de er i overensstemmelse med internationalt vedtagne guidelines. Jo større overensstemmelse hermed, jo større lid kan fæstes til undersøgelsen. Undersøgelser, som ikke opfylder minimumskrav, tages der ikke hensyn til.

Dokumentation

SCOEL vil normalt arbejde ud fra kriteriedokumenter leveret af medlemslande, andre ekspertgrupper eller som kontraktarbejde. Disse dokumenter skal være i overensstemmelse med EC guideline (EUR 13 776 EN). Yderligere vil alle relevante data fra interesserede parter eller på anden vis fremskaffet af Kommissionen blive taget i betragtning.

Den proces, som gennemgås ved udarbejdelsen af en sundhedsbaseret grænseværdi, vil for ethvert stof blive dokumenteret af SCOEL, således at processens underliggende rationale er forståeligt for fagfolk.

Specielt bør den indeholde en klar identifikation af målorgan(er) og kritisk(e) effekt(er), alle bestemte NO(A)EL, den valgte måleperiode og begrundelse for den numeriske værdi af grænseværdien i relation til NO(A)EL, herunder valg af usikkerhedsfaktorer.

Blandinger

I praksis forekommer eksponering for blandinger oftere end eksponering for et enkelt stof. Det er ikke muligt at foretage en evaluering af de effekter, der kan fremkomme ved alle mulige eksponeringskombinationer. Der vil dog blive gjort opmærksom herpå i dokumentationen (Summary dokumentet), hvis dette har særlig stor betydning for en arbejdsplads.

Korttidsgrænseværdi (STEL)

En 8-timers tidsvægtet grænseværdi, TWA, er den normale værdi, som anbefales af SCOEL for at forebygge helbredseffekter ved eksponering for en bestemt stof. For nogle stoffer vil en 8-timers TWA-grænseværdi alene ikke yde tilstrækkelig beskyttelse. I sådanne tilfælde vil det også anbefales at fastsætte en STEL-værdi, som regel omfattende en 15 minutters måleperiode.

Formål og definition af korttidsgrænseværdi

Formålet med STEL er at forebygge sundhedsskader og andre uønskede effekter, fx irritation, nedsat bevidsthed, nedsat flugtevne, ubehag, som kan opstå i forbindelse med peaks i eksponeringen, som ikke vil være under kontrol med en 8 timers TWA-grænseværdi.

STEL er grænseværdi, som ikke må overskrides over en måleperiode på normalt 15 minutter. STEL er ikke en loftsværdi. En loftsværdi (Ceiling value) er en korttidsgrænseværdi uden specifik måleperiode, hvilket indebærer, at koncentrationen ikke må være højere på noget tidspunkt.

STEL kan kun anvendes i normale arbejdssituationer og må ikke anvendes som basis i forbindelse med udarbejdelse af forholdsregler ved uheld eller ulykker. Det er nødvendigt at supplere STEL med yderligere forholdsregler for stoffer, som medfører dødsfald ved meget høje koncentrationer, eller for stoffer hvis toksiske eller irriterende effekt er udtalt ved meget kort tids eksponering for høje koncentrationer.

Andre fremgangsmåder til fastsættelse af STEL

Den videnskabeligt mest rigoristiske måde at udarbejde STEL på kræver gennemgang af et komplet datasæt for hvert stof mhp at udarbejde et regime til kontrol af korttidsseksponeringer (niveau, hyppighed, varighed), som er skræddersyet efter karakteristikken af de specifikke effekter, som det pågældende stof kan fremkalde. Men datasættene vil imidlertid generelt langt fra være komplette, hvilket medfører vanskelighed ved at udføre rigoristiske og velfunderede evalueringer.

Yderligere kan indførelse af overdreven kompleksitet i kontrol-

regimet medføre så store praktiske problemer i den aktuelle anvendelse, at de realistisk set ikke kan overvindes.

Den anden yderlighed er simpelthen at anvende en faktor, som den 8-timers vægtede (TWA) værdi multipliceres med, således som forskellige myndigheder praktiserer det ved grænseværdifastsættelse. Her i Danmark anvendes en faktor 2. Denne fremgangsmåde er administrativt simpel, men den tager ikke hensyn til videnskabelige data om variationen mellem de forskellige stof-fers forskellige effektmønstre. Den er ikke videnskabeligt forsvarlig og er primært en praktisk måde at sikre en god proceskontrol på.

SCOEL foreslår at anvende et kompromis mellem disse ekstremer, som tillader at fastsætte korttidsværdier i lyset af de relevante tilgængelige videnskabelige data og sådan, at der gives et kontrolregime (niveau, varighed og hyppighed), som er praktisk anvendeligt på arbejdspladserne. Denne fremgangsmåde er baseret på en pragmatisk case-by-case gennemgang af tilgængelige data.

Usikkerhedsfaktorer og deres anvendelse

En "usikkerhedsfaktor" (UF) er en faktor, som anvendes i ekstrapoleringsprocessen fra en begrænset human- og dyreforsøgsdatabase til en større human population mhp at tage usikkerhed i processen i betragtning. Termerne sikkerhedsfaktor, vurderingsfaktor, ekstrapolationsfaktor og beskyttelsesfaktor har været anvendt i lignende og sommetider mere specifikke sammenhænge. Rationalet bag brugen er ikke altid klart. SCOEL har besluttet at anvende termen "usikkerhedsfaktor", fordi den oftest efter udvalgets opfattelse bedst beskriver situationen.

Sikkerhedsfaktorer blev først anvendt i 1950'erne ved fastsættelse af Acceptabel Daglig Indtagelse (ADI) af tilsætningsstoffer og forureninger i fødevarer. Disse ADI'er fastsættes ud fra NOAEL fra dyreforsøg og var tiltænkt at skulle yde livslang beskyttelse af en eksponeret befolkning.

Ved fastsættelse af grænseværdier for fødetilsætningsstoffer og forureninger, vand/luft-kvalitetsstandarder mv for livstidseksponering af befolkningen er det internationalt accepteret, at sikkerhedsfaktorer på 10, 100 og 1.000 skal anvendes afhængigt af den eksperimentelle og epidemiologiske evidens. 100 anvendes som normalværdi. Anvendelse af en sikkerhedsfaktor i et specielt tilfælde er ikke automatisk. Den er genstand for en kompleks evaluering, som undertiden involverer ekspert-nighed i stridsspørgsmål om, hvorvidt en toksikologisk database er tilstrækkelig, eller om en given effekt skal betragtes som "adverse".

Der er ikke nogen generelt vedtaget fremgangsmåde for

anvendelse af UF i grænseværdifastsættelsesprocessen for arbejdspladser. Følgende faktorer er imidlertid relevante:

- ◆ Arbejdsstyrken er mere homogen end den almindelige befolkning. Specielt er meget unge, syge og gamle ikke en del af den population, der eksponeres på arbejdspladser.
- ◆ Arbejdsstyrken er normalt eksponeret for luftbårne stoffer i ca 8 timer om dagen, 5 dage om ugen, 240 dage om året i op til ca 45 år. Dette i modsætning til daglig optagelse i et helt livsløb, for hvilket ADI og lignende grænseværdier er fastsat.

Af ovennævnte årsager er det ofte rimeligt at anvende en mindre UF ved fastsættelse af sundhedsbaserede grænseværdier for arbejdspladser end for den almindelige befolkning.

Definition af usikkerhedsfaktorer

Usikkerhedsfaktorer afspejler den totale usikkerhed i det dokumentationsgrundlag, hvorpå en sundhedsbaseret grænseværdi er fastsat. Den indeholder alle vurderingsaspekter, som er relateret til sundhed, fx forskellige administrationsmåder og inter- og intraartsvariations ekstrapolationer. En UF er et tal, hvormed et bestemt NO(A)EL eller LO(A)EL skal divideres for at få en omtrentlig grænseværdi.

SCOEL's anvendelse af usikkerhedsfaktorer

Udvalget har besluttet at anvende følgende generelle retningslinier, når der skal fastsættes et tal på en UF. Det anses yderligere, af ovenstående årsager, at tilstrækkelig beskyttelse på arbejdspladsen vil opnås med anvendelse af en UF, som er mindre end den, der er nødvendig for den almindelige befolkning. Fremgangsmåden vil kun blive anvendt, hvor den pågældende effekt følger en konventionel toksikologisk model med tærskelværdi. Den vil altså ikke blive anvendt for genotoksiske carcinogener og sensibiliserende stoffer. UF skal fastsættes på case-by-case basis og kan ikke forudsiges eller fastsættes i forvejen. SCOEL overvejer hvert stof individuelt i overensstemmelse med den vedtagne generelle retningslinje.

Databaser kan inddeles i kategorier alt efter mængden og kvaliteten af relevant indhold. Generelt vil kategorien af databasen være bestemmende for størrelsen af UF; jo mindre sikker eller overbevisende den er, jo større UF.

Ligeledes kan alvorligheden af den kritiske effekt indgå, fx vil der for gener som lugt og øjenirritation ikke anvendes samme faktor som for lungeødem.

SCOEL begrundet sit valg af UF i sine anbefalinger for grænseværdier og vil begrunde det mere detaljeret, hvis beslutningen om UF falder uden for de generelle retningslinier.

Reproduktionstoksikologi

Som tidligere nævnt er formålet med fastsættelse af grænseværdier for arbejdspladser at hindre sundhedsskadelige effekter hos erhvervsmæssigt eksponerede og/eller deres afkom. Derfor er det nødvendigt at vurdere ethvert stofs potentiale for at fremkalde effekter på forskellige aspekter inden for reproduktionen, selvom tilgængelige relevante data for dette område for en hel del stoffer er begrænsede.

Stoffer, som interfererer med fertilitet eller med præ-/postnatal udvikling, anses på grundlag af den nuværende viden at følge en konventionel toksikologisk tærskelmodel i modsætning til mutagener og genotoksiske carcinogener. Dette tillader, at der kan bestemmes et NO(A)EL.

SCOEL's fremgangsmåde

SCOEL er bekymret over, at der for mange stoffer kun foreligger begrænsede data på dette specielle område. Når SCOEL udarbejder grænseværdier, vil reproduktionseffekter indgå sammen med alle andre toksikologiske aspekter.

Mangel på relevante data vil normalt ikke være et forhold, som indgår i fastsættelsen af usikkerhedsfaktorenes størrelse. Men manglen vil blive anført i Summary-dokumentet.

For stoffer, hvor toksikologiske data omfatter reproduktionseffekter, følger SCOEL følgende fremgangsmåde:

- ◆ Stoffer, som påvirker fertiliteten. SCOEL vil tage effekten på forplantningen i betragtning og fastsætte en grænseværdi, som anses for tilstrækkeligt lav til at beskytte arbejdere mod en sådan effekt.
- ◆ Stoffer, som har vist at kunne give fosterskader. Hvor de tilgængelige data tillader bestemmelse af et NOAEL enten på basis af humane- eller dyreundersøgelser, vil SCOEL tage disse i betragtning og anbefale en grænseværdi, som er tilstrækkeligt lav til at beskytte mod en sådan effekt.

Hvor data indikerer, at der foreligger et stof med indbygget fare for fosterskader, men som ikke med rimelig sikkerhed tillader bestemmelse af et NOAEL, kan SCOEL beslutte at anvende en større UF ved anbefaling af grænseværdierne.

Evaluerings af kemiske carcinogener

For genotoksiske carcinogener er det på basis af den nuværende viden ikke muligt at påvise et eksponeringsniveau, hvorunder der ingen risiko er for carcinogen effekt. Men man må dog antage, at jo lavere eksponeringer, jo lavere er risikoen for udviklin-

gen af kræft. SCOEL's rolle mhp carcinogener er primært at hjælpe Kommissionen i dens arbejde med at foreslå tal for grænseværdier.

Dette indebærer, at SCOEL:

- ◆ på anmodning fra Kommissionen gennemgår videnskabeligt dokumentationsmateriale
- ◆ gennemgår alle forslag fra Kommissionen
- ◆ rådgiver Kommissionen i lyset af den nyeste viden inden for arbejdsmedicin og toksikologi
- ◆ bestræber sig på at estimere forskellige grader af risiko ved forskellige eksponeringsniveauer.

I de tilfælde, hvor det er muligt at påvise en tærskel for aktivitet for et carcinogen, vil SCOEL på case-by-case basis udarbejde en anbefaling om en grænseværdi til Kommissionen, såfremt de nødvendige data er til stede. I sådanne tilfælde følges den sædvanlige procedure for 8 timers TWA, som tidligere er omtalt.

Mutagener

Genotoksiske carcinogener vil også være mutagener. Somatiske cellemutationer spiller en afgørende rolle i den tilgrundliggende mekanisme for carcinogenicitet for denne gruppe stoffer.

Nogle mutagener fremkalder mutationer i kønsceller, som kan overføres til afkommet. Der findes ingen alment acceptabel tærskel for aktivitet for stoffer, som forårsager sådanne arvelige genetiske skader. SCOEL's rolle mhp sådanne stoffer vil svare til den ovenfor beskrevne for genotoksiske carcinogener.

Vurderingen af luftvejssensibiliserende stoffer

Sensibilisering kan defineres som en tilstand med erhvervet specifik ændring i et biologisk systems reaktionsevne, som er initieret ved eksponering med et sensibiliserende stof, og som efter en inkubationstid er karakteriseret ved fremkaldelse af forstærket reaktivitet ved reeksponering med det samme eller et nært beslægtet stof.

På arbejdspladserne kan sensibiliserende stoffer påvirke luftvejene og øjenslimhinder samt huden. Selvom de samme sensibiliserende stoffer kan påvirke både luftvejene og huden, antages det, at forskellige mekanismer er involveret, og et hudsensibiliserende stof behøver ikke nødvendigvis at påvirke luftvejene. Mht fastsættelse af sundhedsbaserede grænseværdier beskæftiger SCOEL sig kun med dokumentationsmateriale omfattende luftvejs- og øjenssensibilisering, da det er denne effekt og ikke hudsensibilisering, der er knyttet til eksponering, fx inhalation af luftbårne stoffer. Kriterierne for klassifikation af et stof med risi-

kosætning R42: Kan medføre sensibilisering ved inhalation, er for nylig blevet udvidet til også at omfatte sensibilisering ved både non-immunologiske og immunologiske mekanismer. For nogle stoffer, fx dem der medfører luftvejssensibilisering via irriteringsmekanismer, kan det være muligt at identificere en tærskelkoncentration, hvorunder induktion af sensibilisering ikke er sandsynlig. Det anses ikke med den nuværende viden for sandsynligt, at en sådan tærskel kan identificeres for stoffer, som virker ved immunologiske mekanismer.

SCOEL's fremgangsmåde

SCOEL vil vurdere hvert stof på case-by-case basis.

Den væsentligste viden om luftvejssensibilisering stammer som regel fra erfaringer fra humane undersøgelser, hvor de mest anvendelige data stammer fra epidemiologiske studier. Case rapporter giver sjældent oplysninger om eksponerings/responsdata, og resultater fra dyremodeller er endnu ikke tilstrækkeligt valideret eller anvendes sjældent. For de stoffer, hvor der foreligger tilstrækkelige data til, at der kan bestemmes en tydelig tærskel for sensibilisering, vil der blive udarbejdet en sundhedsbaseret grænseværdi efter de sædvanlige retningslinier.

I de tilfælde, hvor der ikke kan defineres en sådan rimelig sikker tærskel, er det SCOEL's opfattelse, at en sundhedsbaseret grænseværdi ikke kan fastsættes. Udvalgets rolle i et sådant tilfælde er begrænset til at yde Kommissionen råd om risikoen for luftvejssensibilisering ved forskellige eksponeringsniveauer efter samme retningslinier som for genotoksiske carcinogener. SCOEL mener ikke, at det er muligt at fastsætte sundhedsbaserede grænseværdier, som yder beskyttelse mod udvikling af reaktioner hos personer, som allerede er sensibiliseret over for det pågældende stof. Med dette in mente er det udvalgets intention at anbefale en "sensibiliserings"-notation for hvert stof, hvor SCOEL anbefaler en sundhedsbaseret grænseværdi, såfremt stoffet er klassificeret som luftvejssensibiliserende med risikosætning R42.

Strategi for anvendelse af hudnotation

For at kunne have effektivt styr på den totale systemiske (som kommer ind i kroppen og fordeles) eksponering, er det ikke tilstrækkeligt kun at medregne optagelsen ved indånding. Eksponering af huden kan medføre hudoptagelse og hermed øge den totale belastning af kroppen.

Hudoptagelse vil yde et relativt større bidrag til den totale belastning og derved større sundhedsrisiko for de stoffer, som har lav grænseværdi.

I nogle tilfælde, fx ved sprøjtning med pesticider på marker og

i væksthuse, kan hudoptagelsen være så stor, at den langt overstiger bidraget fra indåndingen. Det er derfor nødvendigt at anføre en "hudnotation" til nogle grænseværdier for at advare om det betydelige bidrag til totalbelastningen, som hudoptagelse kan medføre.

Det skal bemærkes, at hudnotation kun relaterer specifikt til hudoptagelse af stoffet, dvs at den er bestemt af stoffets toksikokinetiske egenskaber i relation til grænseværdiens niveau. Hudnotationen vedrører ikke og har ikke til formål at advare mod direkte hud effekter såsom ætsning, irritation og sensibilisering.

I forskellige landes grænseværdilister forekommer ofte tilføjelser til grænseværdierne, fx Sk(in), H(aut), H(ud), afhængigt af landets sprog. Der er imidlertid ikke noget vedtaget kriterium for hudnotation, og det har medført store forskelle i antallet af stoffer med notationen i de forskellige grænseværdilister. Et kriterium, som fastsætter, hvornår en notation skal anvendes, og hvornår den ikke skal, er derfor påkrævet.

Forhold, som er relevante mht bestemmelse om en hudnotation

Følgende vil være bestemmende for, i hvor stort omfang et kemisk stof vil optages gennem huden:

- ◆ mængden af stof (pr arealenhed), som er i direkte kontakt med huden (dosis)
- ◆ stoffets fysisk-kemiske egenskaber (fedtopløselighed, molvægt, flygtighed)
- ◆ samtidig eksponering med bærestof (vehikel) eller andre kemiske stoffer, som kan forøge gennemtrængeligheden
- ◆ eksponeringstid
- ◆ stoffets fysiske form.

I langt de fleste tilfælde har hudoptagelsen af gasser og dampe i koncentrationer omkring grænseværdien mindre betydning sammenlignet med optagelsen fra lungerne. Direkte hudkontakt med meget flygtige stoffer medfører sædvanligvis ikke optagelse i betydende mængder, idet væskerne normalt vil fordampe hurtigt. Faste stoffer og væsker med kogepunkt over omgivelsernes temperatur og med lavt damptryk kan medføre hudeksponering ikke kun ved direkte kontakt, men også ved aflejring af aerosoler på huden.

Huden på hænder, underarme, ansigt og hals kommer i løbet af en arbejdsdag i kontakt med et volumen, som er adskillige gange større end det indåndede volumen. Derfor kan en endog lille aflejring under visse omstændigheder medføre en betydelig stigning i belastningen af kroppen.

For stoffer, der optages gennem huden, kan biologiske målinger anbefales.

SCOEL's fremgangsmåde

Udvalget er enig om, at det er nødvendigt med en hudnotation, såfremt hudoptagelse kan yde væsentlige bidrag til den totale belastning af kroppen og derfor må tages i betragtning i forbindelse med mulige sundhedseffekter. "Væsentlige bidrag" til totalbelastninger vil blive vurderet på case-by-case basis, men det vil almindeligvis være i området 10% eller mere af den mængde, der kan optages ved indånding ved eksponering ved den 8-timers tidsvægtede grænseværdi (TWA).

Det er konstateret, at kvantitative data for hudoptagelsen i mange tilfælde ikke er tilgængelige.

Oplysninger om betydelig hudoptagelse kan opnås ved humane studier som

- ◆ case rapporter om systemisk effekt efter hudeksponering
- ◆ væsentlig variation i data fra biologiske målinger i forskellige grupper med sammenlignelig eksponering ved indånding
- ◆ subjektive iagttagelser såsom smag efter "kun" hudeksponering.

I tilfælde, hvor der ingen andre data foreligger, kan fysisk-kemiske data eller strukturaktivitetsrelationer give en indikation for mulig hudoptagelse.

SCOEL vil anvende al tilgængelig information som basis for at foretage en vurdering af, hvornår kriteriet for anvendelse af hudnotationer er opfyldt/ikke opfyldt.

For stoffer, som let optages gennem huden, kan vurderingen af eksponeringen ved indånding underestimere belastningen af kroppen. Under disse omstændigheder kan biologiske grænseværdier eller indikatorer have præference eller som en tilføjelse eller supplement til luftgrænseværdier.

Biologiske grænseværdier (BLV)

Hvor det er hensigtsmæssigt, vil SCOEL anbefale BLV på basis af tilgængelige videnskabelige data, som indikerer, at koncentrationer eller koncentrationsniveauer svarende til BLV ikke anses for at medføre sundhedseffekter.

BLV kan udarbejdes på én af følgende måder:

- ◆ fra undersøgelser, som giver en direkte relation mellem koncentrationen af et stof, dets metabolit eller addukt i et biologisk medium og sundhedseffekter
- ◆ hvor der findes en sundhedsbaseret grænseværdi, og hvor

der i undersøgelser er vist en direkte relation mellem koncentrationen af stoffet, dets metabolit eller addukt i et biologisk medium og luftkoncentrationerne

- ◆ ved humane studier, som sammenkæder målelige ikke-skadelige, biologiske effekter og sundhedsskadelige effekter.

BLV udarbejdet efter første metode kan anses som direkte sundhedsbaseret og foretrækkes derfor principielt. De tilgrundliggende undersøgelser er imidlertid oftest mindre veldokumenterede end de, der foreligger for anden metode. BLV udarbejdet efter denne metode er baseret på eksponeringsmålinger, som for stoffer med sundhedsbaserede grænseværdier kan anses for tilstrækkelige til at hindre sundhedseffekter. Den tredje metode kræver bevis for, at der er kvantitativ sammenhæng mellem stoffets målelige ikke-skadelige biologiske effekter og stoffets potentielle sundhedsskadelige effekter.

Udviklingstendenser

Fra 2. verdenskrigs afslutning og de efterfølgende 20-25 år anvendtes stort set værdier fra ACGIH's grænseværdiliste i hele den vestlige verden. Herefter udarbejdede de europæiske lande efterhånden deres egne grænseværdilister, baseret dels på eget dokumentationsgrundlag og dels på dokumentationsmateriale og evalueringer fra andre lande.

Som tidligere omtalt anså man i EF, nu EU, sidst i 1980'erne, at det var nødvendigt at harmonisere grænseværdierne som en del af processen frem mod Det indre Marked. Proceduren for fastsættelse af grænseværdier i EU er tidligere udførligt beskrevet.

Grænseværdierne i EU-medlemslande vil i mange tilfælde blive reduceret, efterhånden som SCOEL udarbejder lister over anbefalede grænseværdier. Dette vil også have en global afsmitning, idet bl.a. EFTA-landene i fremtiden kan deltage som observatører i møderne eller fremsende kommentarer til anbefalingerne, og ACGIH har allerede vist stor interesse i SCOEL's arbejde.

For at illustrere effekten af GV-arbejdet i EU er der i tabel 8.4, 8.5 og 8.6 vist eksempler på danske GV, som i 1996 er nedsat eller varslet nedsat på foranledning af SCOEL's anbefalinger, samt eksempler på danske GV, som hhv er højere eller lavere end de af SCOEL anbefalede.

Det er nødvendigt klart at beskrive, hvilken grænseværdi det drejer sig om. Er det en rent sundhedsbaseret værdi, udarbejdet alene på videnskabelige data, eller er det en administrativ norm, som inddrager tekniske, økonomiske og sociale forhold? I dokumentationen for de sundhedsbaserede grænseværdier er det vigtigt, at der kort, men præcist redegøres for, hvordan og hvorfor man er nået frem til den anbefalede værdi.

Tabel 8.4. Eksempler på danske grænseværdier nedsat eller varslet nedsat på foranledning af SCOEL's anbefalede grænseværdier.

Acrolein	fra	0,1 ppm	til	0,05 ppm
Butylglycol	-	25	-	10
Chlor	-	0,5 mg/m ³	-	0,1 mg/m ³
Dinitro-o-cresol	-	0,2	-	0,02
Hydrogenphosphat	-	0,1 ppm	-	0,05 ppm
Nitrogendioxid	-	3	-	0,2
Zinkoxid og zinkoxidrøg	-	4 mg/m ³	-	0,5 mg/m ³
Aminoethanol	-	3 ppm	-	1 ppm
n-Butylacrylat	-	10	-	2
Cyclohexan	-	200	-	50
Cyclohexanon	-	25	-	10
Diethylether	-	400	-	100
Ethylamin		10	-	5
Svovldioxid	-	2	-	0,2
1.2.4 Trichlorbenzen	-	5	-	2
Xylen	-	35	-	25

Tabel 8.5. Danske grænseværdier, der er højere end de af SCOEL anbefalede.

	SCOEL-anbefaling		Dansk grænseværdi (1996)	
	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³
Ammoniak	20		25	
Butylglycol	20		25	
3 Heptanon	20		50	
Hexan	20		25	
Hydrogenbromid		2		10
5-methyl-3-heptanon	10		25	
5-methyl-2-hexanon	20		50	
Salpetersyre	STEL	0,5		2
Phosgen	0,02		2	
Natriumazid		0,01		0,3
Tetrahydrofuran	50		100	
Toluen	20		25	

	SCOEL-anbefaling ppm	Dansk grænseværdi (1996) ppm
Acetone	500	250
Benzen	<1	0,5
Butanon	100	50
1,4 Dichlorbenzen	20	10
Ethylacetat	200	150
Ethylbenzen	100	50
Hydrogenselenid	0,02	0,01
Phenol	2	1
Sølv	0,1 (mg/m ³)	0,01 (mg/m ³)
1,1,1,- Trichloroethan	100	50
Triethylamin	2	1

Tabel 8.6. Danske grænseværdier, der er lavere end de af SCOEL anbefalede.

Udarbejdelse af kriteriedokumenter er en stor og tidskrævende opgave.

Der arbejdes på en koordinering og standardisering i lighed med de bilaterale aftaler, som findes mellem DECOS i Holland, NIOSH i USA og Norden. Der arbejdes ligeledes på at få forbedret koordineringerne mellem WHO-organisationer og andre organisationer, samt at få de udarbejdede kriteriedokumenter mere fyldestgørende mht dokumentation ved udarbejdelse af GV.

Dette indebærer, at strukturen og indholdet af kriteriedokumenterne standardiseres, så de også kan anvendes som basis for grænseværdifastsættelse, og at internationaliseringen af kriteriedokumenter koordineres yderligere, således at der etableres et internationalt kontaktcenter, hvortil registreres ikke alene dokumenter, der er under udarbejdelse, men også planer om udarbejdelse af nye dokumenter.

Nødvendige videnskabelige data til udarbejdelse af sundhedsbaserede grænseværdier findes ikke for en række stoffer. I sådanne tilfælde kan det i fremtiden være nødvendigt at fastsætte en tentativ midlertidig grænseværdi, som revurderes fx efter 5 år.

Litteratur

Grænseværdidokumentationer fra Nordisk Ekspert Gruppe publiceres i Arbete och Hälsa vetenskaplig skriftserie. Arbetslivinstitutet, Stockholm.

Grænseværdier for stoffer og materialer, At-anvisning 3.1.0.2, december 1996, Arbejdstilsynet.

Kriteriedokumenter og anbefalinger fra SCOEL publiceres af EEC som rapporter i Health and Safety serien.

Methodology for the Derivation of Occupational Exposure Limits: Key Documentation. EEC Report EUR in press.

Occupational Exposure Limits: Key document. Criteria for the qualitative evaluation of human neurobehavioural studies of neurotoxicity. EEC Report EUR 17390.

Occupational Exposure Limits, Criteria documents, Guidance note. Health and Safety. EEC Report EUR 13776.

Svenske kriteriedokumenter publiceres i Arbete och Hälsa vetenskaplig skriftserie. Arbetslivsinstitutet, Stockholm.

The Nordic Expert Group, Past, Present and Future. Nord 1997: 18. Nordic Council of Ministers.

KAPITEL 9

**Toksikologisk
litteratur,
databaser og
videncentre**

*Karl-Heinz Cöhr
Elizabeth Bengtsen
Gunde E. Jensen*

Toksikologisk litteratur, databaser og videncentre

Dette kapitel giver oplysninger om, hvor man kan finde toksikologiske oplysninger. Kapitlet fortæller om opslagsværker, fagtidsskrifter, databaser, danske videncentre og internetadresser. Vedrørende oplysninger om lovgivning, regulering mv af kemiske stoffer og produkter henvises til kapitlerne "Kemiske stoffer og produkter i arbejdsmiljøet" og "Klassificering og mærkning" i basisbog om kemikalier og produkter i arbejdslivet, bind I.

Behovet for toksikologisk viden afhænger af, hvem man er, og hvad formålet er. Til visse formål, bl.a. forsknings- og udviklingsopgaver, hvor man fx kan være interesseret i en specifik toksisk effekt, en toksisk virkningsmekanisme eller en dybtgående toksikologisk udredning, vil det være nødvendigt at benytte de primære datakilder i de videnskabelige fagtidsskrifter. Man kan også være interesseret i den nyeste viden og må ty til fagtidsskrifterne eller evt direkte kontakt med forskerne.

Til mange formål, fx toksikologisk screening, vil sekundære datakilder som opslagsværker/håndbøger/faktuelle databaser mv være de mest velegnede, idet de giver et hurtigt overblik over et kemisk stofs toksikologiske profil. Sekundære datakilder indeholder sammenstillinger af den toksikologiske viden op til det tidspunkt, værket blev forfattet. Mange sekundære datakilder bliver ikke altid ajourført eller i bedste fald kun med års interval. Det betyder, at disse værker ikke altid indeholder den nyeste viden.

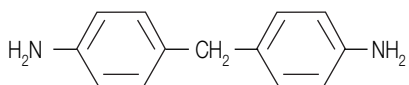
Man kan endvidere være interesseret i toksikologiske virkninger forårsaget af et bestemt kemisk stof, dvs at man ønsker at vide alle de kendte virkninger af stoffet. I den forbindelse kan man specielt være interesseret i at kende forgiftningssymptomer ved eksponering for stoffet, og hvorledes man behandler forgiftninger.

Man kan også ønske at skaffe sig generel viden om toksikologi i almindelighed eller specifikt om arbejdsmiljøtoksikologi.

Datasøgning

Datasøgningsstrategien er således afhængig af, til hvilket formål den indsamlede viden skal benyttes. Det første led i søgestrategien er derfor at gøre sig klart, hvad det er, man vil vide, og på hvilket detaljeringniveau. Herudfra kan man vælge de datakilder, der skal benyttes. Næste led i søgestrategien er at identificere det kemiske stof og eventuelle isomere med navne og CAS-numre.

Forskellige kilder kan benytte forskellige navne for det samme stof, således at én kilde benytter ét navn og anden kilde et andet. Den sikreste identifikation af et kemisk stof vil derfor ofte være et indeks-nr., fx CAS-nummeret, som er det mest udbredte. Som eksempel på forskellige navne for et kemisk stof kan nævnes, at stoffet 4,4'-methylendianilin (CAS-nr. 101-77-9) (fig. 9.1) kan findes med følgende andre navne: 4,4'-diaminodiphenylmethan, dianilinmethan, 4,4'-metylenbisbenzenamin og forkortelsen MDA. Endvidere udelades 4,4'- ofte i navnene. Der er her benyttet dansk stavemåde. Hvis man vil søge i udenlandske datakilder, skal den tilsvarende engelske stavemåde benyttes (4,4'-methylenedianiline, 4,4'-diphenyldiaminomethane, dianiline-methane, 4,4'-methylenebisbenzeneamine). Mere komplicerede stoffer kan have flere navne, som slet ikke ligner hinanden. Endvidere kan de have generiske navne, som det fx er tilfældet for pesticider og medicinske stoffer.



Figur 9.1. 4,4'-methylendianilin (CAS-nr. 101-77-9).

Det kan godt tage nogen tid at identificere relevante kemiske navne og CAS-numre for det kemiske stof, man vil fremskaffe toksikologiske oplysninger om. I Anneks 1 findes en liste med gode kilder til fremfindning af kemiske stoffers alternative navne og CAS-numre. Kemiske stoffers navne og CAS-numre findes også i mange af de opslagsværker og databaser, som i øvrigt nævnes i Anneks 1. Mange almindeligt anvendte stoffer findes bl.a. i Arbejdstilsynets liste over Grænseværdier for stoffer og materialer og Miljøstyrelsens Liste over farlige stoffer. Disse lister indeholder kemiske stoffer i alfabetisk orden. Kemisk Ordbog indeholder de danske kemiske nomenklaturregler, som er baseret på de internationale regler.

I mange tilfælde har man ikke specifikt kendskab til, hvilke kemiske stoffer der er tale om i et eksponeringsmiljø. I disse

situationer kan man have god gavn af at konsultere opslagsværker som Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology eller Hawley's the Condensed Chemical Dictionary, samt forsknings- og udredningsrapporter fra fx Arbejdstilsynet, Arbejds miljøinstituttet og Miljøstyrelsen, der indeholder oplysninger om kemiske stoffers forekomst og anvendelse i produkter og processer.

Arbejds miljøinstituttet har udarbejdet en database over luftforureninger i plastindustrien (Plastbase), som indeholder kemiske og toksikologiske data om luftforureningerne og deres virkninger på især øjne, næse og luftveje.

I forbindelse med toksikologiske risikovurderinger har man brug for viden om eksponeringsforhold. Mange kilder angiver, hvilke doser der har medført hvilke effekter. I forbindelse med vurdering af komplekse blandinger kendes eksponeringskoncentrationer/doser ikke altid. I nogle tilfælde kan man benytte matematiske modeller til estimering. Eksempelvis kan man estimere afdampningen af organiske opløsningsmidler fra produkter, fx malinger, vha SUBTEC-programmet, som er udviklet af Arbejds miljøinstituttet og firmaet Enpro ApS.

Specielle kemiske stoffer som farvestoffer og pigmenter, pesticider og kosmetikstoffer, der ofte er oplyst med generiske navne eller handelsnavne, kan man finde en del af i Colour Index International og i Oversigt over godkendte bekæmpelsesmidler og Bekendtgørelse om kosmetiske produkter.

Datakilder

Primære datakilder

Primære datakilder er videnskabelige artikler i fagtidsskrifter og forsknings- og undersøgelsesrapporter. I Anneks 2 er givet en oversigt over de mest relevante toksikologiske fagtidsskrifter. De relevante data findes ved søgning i bibliografiske databaser. Mange sekundære datakilder har ligeledes henvisninger til de primære datakilder, som er benyttet.

De ønskede data, fx tidsskriftartikler, fremskaffes via forskningsbibliotekerne. En oversigt over de vigtigste offentligt tilgængelige forskningsbiblioteker o.l. er nævnt i Anneks 3. Endvidere har en del sektorforskningsinstitutter, fx Arbejds miljøinstituttet, og universitetsinstitutter deres egne lokale, specialiserede fagbiblioteker.

Forskningsbibliotekerne kan endvidere være behjælpelige med

at fremskaffe litteratur, som ikke findes i Danmark, fra udenlandske biblioteker.

Sekundære datakilder

Sekundære datakilder er referenceværker, som fx håndbøger, monografier inkl. stofvurderinger, lærebøger og databaser. De sekundære datakilder kan indeholde såvel vurderede som uvurderede referencer af primærdata. I Anneks 1 er givet en oversigt over de mest relevante toksikologiske referenceværker.

Databaser

Data, som anvendes i en sundheds- eller miljømæssig vurdering, findes i mange forskellige kilder pga toksikologiske problemstillingers tværfaglige natur. Mængden af information er steget voldsomt i de sidste 20-30 år. Kilderne til toksikologiske data er mangfoldige, og det kan være en tidskrævende proces at indhente toksikologiske oplysninger. Selvom elektroniske databaser i høj grad har lettet arbejdet, er der i dag så mange tilgængelige data via forskellige medier, at det kræver specialviden at udvælge og søge i de mest relevante.

Det kræver et nærmere kendskab til de enkelte databasers opbygning for at opnå et optimalt resultat af sin datasøgning, som finder alle eller i hvert fald de fleste relevante data uden samtidig at give meget "støj" i form af urelevante eller multiple henvisninger. Derfor har fagspecialister specialiseret sig i de enkelte databaser. Forskningsbibliotekerne og visse videncentre, fx DTC, kan almindeligvis mod betaling udføre datasøgninger via databaseværter, hvis man ikke selv vil give sig i kast med databasesøgninger.

Den nyeste informationsteknologiske udvikling har gjort, at mange databaser er tilgængelige på flere måder: on-line via data-netforbindelser eller internettet, og off-line på CD-ROM'er.

Chemical Abstracts

Bibliografisk database, som dækker alle emner inden for kemi. Indeholder referencer fra 12.000 tidsskrifter samt fra patenter, konferenceberetninger (proceedings), afhandlinger, tekniske rapporter og bøger. Tidsskriftartiklerne udgør ca 73% af databasen.

Databasen dækker fra 1982 og frem, og den vokser årligt med omkring 500.000 nye poster inden for alle aspekter af kemi. Den geografiske dækning er hele verden. Produceres af the American Chemical Society, USA. Findes også på CD-ROM.

BIOSIS Previews (Biological abstracts)

Bibliografisk database, som dækker emner inden for cytologi, zoologi, genetik, botanik og mikrobiologi foruden relaterede områder som biokemi, jordbrug, økologi og farmakologi. Over 7.600 tidsskrifter indekseres foruden monografier, rapporter, reviews, meeting abstracts, proceedings, og symposier fra hele verden. Der er abstracts i 55% af referencerne. Den geografiske dækning er Europa og Mellemøsten (50%), Nordamerika (29%), Asien og Australasien (15%), Mellem- og Sydamerika (4%) og Afrika (2%). Databasen dækker fra 1985 og frem. Fra 1986-90 er medtaget patenter. Produceres af BioSciences Information Service of Biological Abstracts, Inc., USA. Findes også på CD-ROM.

TOXLINE (Toxicology Information Online)

Bibliografisk database, som dækker toksikologiske virkninger af lægemidler, pesticider og andre kemiske stoffer. Basen indeholder referencer til publiceret litteratur og igangværende forskning inden for emnerne bivirkninger, kræft, mutagenicitet, teratogenicitet, forurening (også levnedsmidler). Hovedparten af referencerne indeholder foruden bibliografiske oplysninger kontrollerede emneord og/eller CAS-numre. Databasen består af en række subfiler, hvorfor formatet kan variere, og en reference kan være indekseret mere end én gang. Databasen dækker fra ca 1965 og frem. Produceres af National Library of Medicine, USA. Findes også på CD-ROM og på internet (<http://igm.nlm.nih.gov>).

Medline

Bibliografisk database, som indeholder abstracts og referater fra biomedicinsk litteratur. Over 3.700 tidsskrifter fra over 70 lande indekseres. Databasen dækker fra 1966 og frem. Produceres af National Library of Medicine, USA. Medline er tilgængelig on-line og på internet (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/> og <http://igm.nlm.nih.gov>).

Medical Toxicology and Health

Bibliografisk database, som indeholder referencer inden for kemikalier i levnedsmidler, forbrugsvarer og miljøet, sundhedsmæssige konsekvenser af rygning, stråling og støj, pesticider, luft- og vandforurening, industrielle kemikalier samt inden for veterinærmedicin, GLP, kosmetik, generel toksikologi. Over 2.000 hovedsagelig engelsksprogede tidsskriftartikler er indekseret foruden referencer fra proceedings, rapporter, monografier, cirkulærer og andre officielle publikationer. Databasen dækker fra oktober 1983 og frem. Abstracts er medtaget fra 1984. Produceres af Department of Health, London.

RTECS (Registry of Toxic Effects of Chemical Substances)

Faktuel database, som indeholder profiler over ca 145.000 kemiske stoffer, der er arbejdsmiljørelevante. Det er muligt at identificere giftige egenskaber bl.a. ved molekylvægt, handelsnavn og synonymer. Endvidere er det muligt at finde data om sundhedsfarlige egenskaber. Databasen er startet af National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), USA (det amerikanske arbejdsmiljøinstitut), men udgives nu af Canadian Center for Occupational Safety and Health (CCOSH), Canada. Findes også på CD-ROM og på internet (<http://toxnet.nlm.nih.gov/servlets/>).

HSDB (Hazardous Substances Data Bank)

Faktuel database, som løbende dækker emner inden for potentielle farlige kemikaliers toksikologi. Basen omfatter data fra monografier, tekniske rapporter, regulativer og primære tidsskriftartikler. Litteraturhenvisninger. Indholdet vurderes af et panel af toksikologiske og kemiske eksperter. Produceres af National Library of Medicine, USA. Findes også på CD-ROM og på internet (<http://toxnet.nlm.nih.gov/servlets/simple-search?1.5.0>).

IRIS (Integrated Risk Information Service)

Faktuel database med monografier af en række farlige kemikaliers toksikologi, samt risikovurdering af indtagelse og indånding af dem. Monografierne er baseret på tekniske rapporter, regulativer og primære tidsskriftartikler. Litteraturhenvisninger. Monografierne vurderes af et panel af toksikologiske eksperter. Produceres af Environmental Protection Agency (EPA), USA (den

amerikanske miljøstyrelse). Findes også på CD-ROM og på internet (<http://toxnet.nlm.nih.gov>).

Tomes Plus System (CD-ROM)

Bibliografisk referencedatabase på CD-ROM med informationer om kemiske, medicinske og risikofyldte stoffer, der anvendes i industrien. Indeholder bl.a. følgende databaser: Meditext, Saratext, Infotext og RTECS.

OSH-ROM/MHIDAS (CD-ROM)

Bibliografisk referencedatabase på CD-ROM med mere end 300.000 referencer fra 500 tidsskrifter og 100.000 rapporter vedrørende arbejdsmiljørelevante kemikalier. Databasen dækker litteratur fra over 50 lande fra perioden 1960 og frem. Komplet indhold fra databaserne NIOSHTIC fra NIOSH, USA, HSELINE fra the Health and Safety Executive (HSE), England, CISDOC fra International Labour Organisation (ILO) under FN og MHIDAS (The Major Hazard Incidence Data Service).

CCINFOdisc (CD-ROM)

Denne databasesamling er opdelt i serier. Den udgives af CCOSH.

Serie A2

Dækker bl.a. kemi, arbejdsmiljø, toksikologi, sundhedsfarlige stoffer, transport af farlige stoffer, pesticider, samt forskning inden for disse områder. Følgende baser er indeholdt: CHEMINFO, Chemical Evaluation Search and Retrieval System, Chemical Hazards Response Information System (CHRIS), Domestic Substances List/Non-Domestic Substances List.

Serie A3

Indeholder de fransksprogede udgaver af MSDS på kemikalier, der anvendes i Canada. Produceret af CCOSH.

Serie B1

Indeholder informationer om bl.a. emnerne sundhed, miljø, lovgivning, arbejdsulykker, sikkerhedsbestemmelser, støjniveau. Følgende baser er indeholdt: Canadian Studies, Canadian Case

Law, Directory of Health and Safety Legislation in Canada, Essentials Fatality Reports, Mining Incidents, Molindex, Noise Levels, OH&S Software Packages and Resources. Produceret af CCOSH.

Serie B2

Indeholder emner om bl.a. arbejdsmiljø og -sundhed, forskning og organisationer, der beskæftiger sig med sundhed og sikkerhed. Geografisk dækkes 40 lande i Europa, Amerika, Asien og Afrika. Dækningen sker via henvisninger til litteratur, der behandler emnet. Baserne, der medtages, er CIS-ILO, INET-Research Projects, INOR-Organizations, INRS-Bibliographie og International Directory of OSH Institutions. Produceret af International Occupational Safety and Health Information Centre.

Serie C1

Indeholder RTECS (se foran).

Serie D1

Indeholder over 800.000 referencer til litteratur om kemikalier og toksikologi dækkende hele verden. Dækker fra 1981 og frem. Hvert kvartal tilføjes ca 15.000 nye referencer.

Serie D2

Indeholder detaljeret information om 4.500 sundhedsfarlige kemikalier, hvor mange af informationerne er blevet vurderet af et ekspertpanel. Profilerne over de forskellige kemikalier er inddelt i 150 datafelter, som igen er inddelt i 10 overkategorier, fx identifikation, sikkerhed og beskyttelse, sundhedsfarer og gift, måle- og analysemetoder. Indeholder litteraturhenvisninger.

Databaseværter

Databaseværter er specielle datanetværksknudepunkter, som samler forbindelser til en række databaser. Adgang til databaseværten kan ske gennem specielle datanetforbindelser og i nogle tilfælde via internettet. Mange værter giver adgang til elektroniske databaser over det meste af verden.

Man skal have en aftale med en databasevært for at få adgang til databaserne. Forskningsbibliotekerne og mange videncentre har aftaler med en eller flere databaseværter. De forskellige forskningsbiblioteker og videncentre kan benytte forskellige databaseværter afhængigt af deres erfaring. Alle databaseværter

giver ikke adgang til de samme databaser, og det kræver en del erfaring at vælge de rigtige databaseværter og de rigtige databaser for at opnå et optimalt søgeresultat.

De mest benyttede databaseværter til toksikologiske spørgsmål er Datastar, Dialog, DIMDI og STN, som giver mulighed for at søge i en række bibliografiske databaser, dvs databaser, som indeholder henvisninger til primærlitteraturen. Nogle databaser indeholder resumeer (abstracts).

Internet

Internettet byder på en række nye muligheder for informations-søgning. Internettet er et verdensomspændende elektronisk netværk, hvor offentlige institutioner og private tilbyder adgang til store mængder data. Blandt disse er også en del af de databaseværter, som omtales andetsteds, men de kræver en aftale for at kunne benyttes ligesom ved opkobling via et datanet. Det koster penge at søge i disse informationskilder ligesom ved opkobling via et datanet, men de fleste datakilder er gratis at benytte. For at kunne benytte informationskilderne på internettet skal man have adgang til internettet, og man skal have en PC med et kommunikationsprogram, en såkaldt browser og evt et mail-program.

Internettet blev startet af det amerikanske forsvar, som ønskede et decentralt kommunikationssystem. Amerikanske forskere indså hurtigt en bred anvendelighed af internettet, og det har udviklet sig til et middel til åben kommunikation mellem forskere, som via nettet udveksler ideer og erfaringer. Diskussionsgrupperne blev hurtigt en vigtig del af trafikken på internettet. Den store udbredelse fik internettet dog først, da http-sproget (hyper text transmission protocol) blev opfundet.

Her omtales nogle centrale hjemmesider (WEB-steder) og diskussionsgrupper (mailing-lists).

Internettets udbredelse og anvendelse øges imidlertid hele tiden, så de her omtalte WEB-steder og diskussionsgrupper kan være ændret, nedlagt eller have fået nye adresser.

Centrale WEB-steder

Via internettet har man adgang til mange data. Mange institutioner og virksomheder har gjort deres informationsdatabaser eller dele heraf tilgængelige for alle på internettet. Der findes mange

muligheder for at finde data på nettet, også toksikologiske data.

I tabel 9.1 er nævnt en række WEB-steder, som indeholder henvisninger (links) til mange datakilder på internettet, som omhandler toksikologi, miljømedicin og -toksikologi. Der er også medtaget en henvisning til et WEB-sted, hvor man kan søge andre nyttige oplysninger om kemiske stoffer (Chemfinder). Disse WEB-steder indeholder en del henvisninger til de samme WEB-steder, men hver har også sine unikke henvisninger.

ATSDR-stedet (Agency for Toxic Substances and Disease

WEB-stedets navn	WEB-stedets adresse
ATSDR - Information Center Bookmarks	http://atsdr1.atsdr.cdc.gov:8080/icbkmrk.html
Chemfinder	http://chemfinder.camsoft.com
Directory of sites in occupational and environmental health	http://med.ed.ac.uk/hew/links/default.htm
Hardin Meta Directory	http://www.lib.uiowa.edu/hardin/md
Internet Grateful Med V2.6 (National Library of Medicine)	http://igm.nlm.nih.gov/
Links to pages related to toxicology	http://www.unimaas.nl/~farmaco/Toxicology/toxlinks.htm
MedPharm - Toxicological Resources	http://www.medfarm.unito.it/toxicol/toxicol1.html
Occupational and environmental medicine resources	http://www.occenvmed.net
Occupational and environmental medicine WWW resource index	http://gilligan.mc.duke.edu/oem/index2.htm
OSHWEB	http://www-iea.mc.tut.fi/cgi-bin/oshweb.pl
PubMed (National Library of Medicine)	http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubMed
Toxicological Links	http://chem.leeds.ac.uk/luk/links.html
Toxicology Data Search (National Library of Medicine)	http://toxnet.nlm.nih.gov/servlets/simple-search?1.5.0
TOXINFO	http://www.potomac.net/users/rbhuis/toxinfo.htm
Yahoo: toxicology	http://www.yahoo.com/Health/Medicine/Toxicology
Yahoo: environmental toxicology	http://www.yahoo.com/Health/Environmental_Health/Environmental_Toxicology

Registry, USA) har både mange toksikologiske vurderinger og mange henvisninger til relaterede steder, hvor der kan søges viden.

WEB-stederne, som er oprettet af National Library of Medicine i USA, giver adgang til gode databaser, der vedligeholdes af de amerikanske myndigheder. Fx rummer WEB-adressen “<http://toxnet.nlm.nih.gov/servlets/simple-search?1.5.0>” adgang til databaserne HSDB, IRIS og RTECS, som er omtalt s. 253, samt databaserne CCRIS (Chemical Carcinogenesis Research Information

Tabel 9.1. Centrale WEB-steder vedrørende toksikologi og arbejdsmiljø.

System) og GENE-TOX (Genetic Toxicology/Mutagenicity Data Bank). WEB-adressen "http://igm.nlm.nih.gov" giver bl.a. fri adgang til databasen ChemID, som indeholder alle de kemiske stoffer (ca 335.000), som findes i NLM-databaserne.

For nylig har et af de store søgeservicesteder på internettet (Yahoo) fået særlige grupper for toksikologi og miljøtoksikologi, men der er endnu ikke så mange henvisninger.

Læseren opfordres til selv undersøge de nævnte WEB-steder (tabel 9.1) og deres links til andre WEB-steder for at finde sine egne favoritsteder på internettet.

Diskussionsgrupper

På internettet findes en række diskussionsgrupper, hvor man kan følge med i diskussioner om relevante emner. Diskussionsgruppen er en smart måde at udnytte internettet på. Kommunikationen foregår via e-mail, som fordeles til diskussionsgruppens medlemmer fra en central mail-server. Man skal tilmelde sig diskussionsgruppen for at kunne deltage i dens aktiviteter. Det er som hovedregel gratis at deltage, og man tilmelder sig via e-mail. Man kan selv deltage aktivt med input til andres indlæg og man kan stille spørgsmål og få nyttige tilbagemeldinger fra andre medlemmer af diskussionsgruppen. Nogle diskussionsgrupper er lukkede for personer uden for en bestemt kreds.

Det er ikke nemt at få overblik over, hvilke diskussionsgrupper der findes, og hvilke emner der diskuteres. Men der findes to WEB-steder, som indeholder udtømmende oversigter over diskussionsgrupper inden for arbejdsmiljø- og arbejdsmedicinrelevante områder. På disse WEB-steder kan man orientere sig om de forskellige relevante diskussionsgrupper, ligesom der er information om, hvordan man tilmelder sig.

<http://www.mrg.ab.ca/christie/safelist.htm>

Denne liste indeholder henvisninger til ca 2.760 WEB-steder, diskussionsgrupper, nyhedsgrupper mv. Listen omfatter alle aspekter af begrebet "sikkerhed" (safety) og arbejdsmiljø.

<http://www.occenvmed.net/oemlist.htm>

Denne liste indeholder henvisninger til en række diskussionsgrupper inden for arbejds- og miljømedicin og toksikologi. Endvidere indeholder den en oversigt over andre lister med relevante henvisninger.

Diskussionsgruppens navn	Tilmeldingsadresse (e-mail)	LISTNAVN
AIIHA industrial hygiene list	majordomo@lists.iiha.org	IH-LIST
Global occupational hygiene	listproc@cornell.edu	GlobalOccHyg-L
Occupational and environmental medicine	majordomo@list.mc.duke.edu	occ-env-med-L
Safety list	listserv@list.uvm.edu	SAFETY
Toxicology	listserv@uci.edu	TOXLINK
Toxicology list	listserv@esc.syrres.com	TOXLIST

Der er udvalgt nogle relevante diskussionsgrupper, som omfatter toksikologi, sikkerhed, arbejds- og miljømedicin og arbejdshygiejne. Disse er listet i tabel 9.2. Man tilmelder sig disse ved at sende en e-mail til de nævnte tilmeldingsadresser med beskeden fx "subscribe LISTNAVN dit navn" uden at skrive noget i emnefeltet, hvor LISTNAVN er den tekst, der står i tabellen. Mail-serveren registrerer automatisk afsenderens e-mail-adresse. For listerne "occ-env-med-L" og "IH-LIST" skal man kun skrive "sub-scribe LISTNAVN" uden at skrive sit navn. Når man vil melde sig fra en diskussionsgruppe, sender man følgende e-mail til tilmeldingsadressen med beskeden "unsubscribe LISTNAVN". E-mailen skal sendes fra samme adresse, som man tilmeldte sig fra.

Tabel 9.2. Centrale diskussionsgrupper vedrørende toksikologi og arbejdsmiljø.

Videncentre

Hvis man har brug for hjælp og vejledning ud over de råd, man kan hente i dette kapitel, findes der en række danske videncentre, hvor man kan henvende sig. I Anneks 3 findes en del af de væsentligste videncentre listet. De fordeler sig på offentlige myndigheder og deres sektorforskningsinstitutter, forskningsbibliotekerne, andre offentlige institutioner, fx arbejdsmedicinske klinikker og universitetsinstitutter, og konsulentvirksomheder, fx GTS-institutter (godkendte teknologiske serviceinstitutter) og BST-centre (bedriftssundhedstjenester). Endvidere kan man søge kontakt med nøglepersoner gennem faglige foreninger. Et par danske videncentre omtales særskilt nedenfor, Kemiservice og Giftinformation.

De fleste steder kan man få kort rådgivning gratis. Længerevarende vejledning og egentlig opgaveløsning vil hos konsulenter koste penge. Hos myndigheder kan der blive tale om indtægtsdækket virksomhed, som i så fald også koster penge. Der findes endvidere videncentre uden for landets grænser, men de

vil ikke blive nærmere omtalt. En del er nævnt i afsnittene om databaser og internet.

Kemiservice

Kemiservice er Arbejdstilsynets telefonservice vedrørende kemiske stoffer og materialer. Kemiservices adresse er Arbejdstilsynet, Kontor for Produktdata, Landskronagade 33, 2100 København Ø. Kemiservice er åben for alle, mandag til torsdag kl. 9.00-15.00 på det direkte telefonnummer 3915 2600. Den daglige drift bliver varetaget af en person med en kemisk/toksikologisk baggrund og kendskab til arbejdsmiljøforskning og arbejdsmiljølovgivningen.

Kemiservice modtager årligt 1.200-1.500 telefoniske henvendelser. Omtrent halvdelen af henvendelserne kommer fra ansatte på virksomhederne. De øvrige kommer fra andre organisationer, fx BST, arbejdsmedicinske klinikker, sundhedsmyndigheder, og pressen.

De fleste opkald vedrører vurdering af et kemisk stofs farlighed. Det kan fx være i forbindelse med udarbejdelse af et sikkerhedsdatablad, en anmeldelse af et produkt til Kontor for Produktdata, usikkerhed om brugen af et stof eller produkt eller et ønske om vurdering af årsagssammenhænge i forbindelse med opståede sundhedsskader.

De produkttyper, der hyppigst har været forespurgt om i perioden 1996-98, er rengøringsmidler, maling, klæbemidler og laboratoriekemikalier. Den hyppigst berørte branche var bygge- og anlægsvirksomhed, men forespørgslerne vedrørte også kemisk industri, rengøringsvirksomhed, autobranschen, grafisk industri, sundhedsvæsen, forskning og udvikling, samt jern- og metalindustrien.

Henvendelserne til Kemiservice registreres og systematiseres og kan derved bl.a. anvendes til at identificere eventuelle problemområder i arbejdsmiljøet.

Giftinformationen

Ved akutte forgiftningstilfælde kan man ringe til Giftinformationen og få oplysning om, hvordan man skal forholde sig ved den konkrete forgiftning.

Giftinformationen er placeret på Arbejdsmedicinsk Klinik i København. Giftinformationens adresse er Bispebjerg Hospital, Arbejdsmedicinsk Klinik, Bispebjerg Bakke 23, 2400 København NV. Giftinformationen har døgnvagt på det direkte telefonnummer 3531 3531, lok. 6060. Den daglige drift varetages af en læge.

Rådgivning vedrørende forgiftninger er koordineret mellem Arbejdsmedicinsk Klinik og Klinisk Biokemisk afdeling på Bispebjerg Hospital. Delingen af ansvarsområdet er således, at Arbejdsmedicinsk Klinik rådgiver vedrørende tekniske kemikalier, husholdningsprodukter, planter, dyr, mv, og Klinisk Biokemisk afdeling rådgiver vedrørende forgiftning med lægemidler og rusmidler (i samarbejde med Klinisk Farmakologisk enhed).

Giftinformationen modtog godt 2.100 forespørgsler i 1997. Spørgerne var hovedsagelig læger og myndigheder. Mindre end 10% af henvendelserne angik teoretiske risikovurderinger og generel information, mens mere end 90% af henvendelserne drejede sig om konkrete forgiftningstilfælde.

Forgiftningsforespørgsler vedrørende kemikalier (stoffer og produkter) udgjorde 60%, og 20% drejede sig om planter. De resterende 20% vedrørte kosmetik, lægemidler, dyr og andre produkter. De seneste 3 års forgiftningsforespørgsler er indført i en elektronisk erfaringsdatabase. Dette vil lette rådgivningen fremover.

Anneks 1

Opslagsværker, håndbøger mv

Kemi

Kemiske navne, CAS-numre mv

American Chemical Society. CAS Registry, -1998.

(<http://www.cas.org>)

American Chemical Society. National Chemical Inventories, -1998.

Andersen P, Bostrup O, Brønnum-Hansen K, Damhus T, Kaufmann I, Olesen Larsen P, Pedersen CTh, Senning A.

Kemisk Ordbog. København: Teknisk Forlag, 1996.

Bekendtgørelse af listen over farlige stoffer. Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 69 af 7. februar 1996.

Bekendtgørelse om kosmetiske produkter. Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 805 af 30. august 1996.

Colour Index International. Bradford: The Society of Dyers and Colourists, -1998.

Grænseværdier for stoffer og materialer. At-anvisning nr. 3.1.0.2, december 1996. København: Arbejdstilsynet, 1996.

IUPAC's web-sted for organisk-kemisk nomenklatur:

<http://www.chem.qmw.ac.uk/iupac/>

Jensen AA. Kemisk nomenklatur: En vejledning i anvendelsen af den moderne kemiske navngivning. Vejledning 3/1983.

København: Arbejdstilsynet/Arbejds miljøinstituttet, 1983.

Oversigt over godkendte bekæmpelsesmidler. Orientering fra Miljøstyrelsen. København: Miljøstyrelsen, 1998. (Ny udgivelse hvert år).

Toxic Substances Control Act (TSCA), Chemical Substance Inventory. Environmental Protection Agency (EPA). Office of Toxic Substances, Washington D.C., -1998.

Produkter, processer mv

Grayson M (ed). Kirk-Othmer. Encyclopedia of Chemical Technology. 3. udgave. New York: John Wiley & Sons, 1984.

Hawley GG (ed). The Condensed Chemical Dictionary. 10. udgave. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1981.

Jensen B, Smith A, Wolkoff P. Plastbase. København: Arbejds miljøinstituttet. (Fås på diskette ved henvendelse til AMI).

The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 11. udgave. Rahway, New Jersey: Merck and Co, 1989.

Olsen E mfl. SUBTEC. København: Arbejds miljøinstituttet. (Kan købes på AMI).

Arbejds miljøtoksikologi

American Conference of Governmental Industrial Hygienists Incorporated (ACGIH). Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices. 6. udgave. Cincinnati: ACGIH, 1991.

Andersen I (ed). Basisbog i arbejds medicin. Bind I-III.

København: Arbejdstilsynet/Arbejds miljøinstituttet, 1994.

Andrup E (ed). Kemikalier og Sikkerhed. København: Teknisk forlag, 1998.

Arbejds miljøinstituttet og Arbejdstilsynet har udgivet rapporter og kompendier om en række stoffer mv. Oversigt kan fås ved henvendelse til Arbejdstilsynets publikationsafdeling.

Astrup H, Bonde JP, Sigsgaard T, Rasmussen K. Miljø- og arbejds medicin. København: FADL, 1998.

Clayton GD, Clayton FE (eds). Patty's Industrial Hygiene and Toxicology. 4. udgave. Bind II, del A-F. New York: John Wiley & Sons, 1993-4.

Dutch Institute for Working Environment and the Dutch Chemical Industry. Chemical Safety Sheets. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991.

Hamilton A. Hamilton and Hardy's Industrial Toxicology. 4.

- udgave. Littleton: Wright, 1983.
- Hathaway GJ, Proctor NH, Hughes JP. Proctor and Hughes' Chemical Hazards of the Workplace. 4. udgave. New York: Van Nostrand Reinhold, 1996.
- Kühn-Birett. Merkblätter gefährliche Arbeitsstoffe. 101 Ergänzung. Lieferung 7/97. Landsberg/Lech: Ecomed, 1997.
- Lauwerys RR, Hoet P. Industrial Chemical Exposure: Guidelines for Biological Monitoring. 2. udgave. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993.
- Lewis RJ. Hazardous Chemicals Desk Reference. 4. udgave. New York: Van Nostrand Reinhold, 1997.
- Lewis RJ. Sr. Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials. 9. udgave. New York: Van Nostrand Reinhold, 1996.
- MAK-Kommission. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK Werten. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1995.
- Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS). National Institute for Occupational Safety and Health, USA. CHEMBANK CD-ROM-udgave, ajourføres kvartårligt. Findes også online.
- Snyder R (ed). Ethel Browning's Toxicity and Metabolism of Industrial Solvents. 2. udgave. Bind 1. Amsterdam: Elsevier, 1987.
- The Nordic Expert Group for Criteria Documentation of Health Risks from Chemicals, Nordic Council of Ministers. Solna, Sverige: Arbetslivsinstitutet. (Vetenskaplig skriftserie: Arbete och Hälsa).
- Williams PL, Burson JL (eds). Industrial Toxicology: Safety and Health Applications in the Workplace. New York: Van Nostrand Reinhold, 1985.

Toksikologi

- Amdur MO, Doull J, Klaassen CD (eds.) Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 4. udgave. New York: McGraw-Hill, 1991.
- European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC) & International Register of Potentially Toxic Chemicals (IRPTC/UNEP). Inventory of Critical Reviews on Chemicals. Brussels-Geneva: ECETOC-IRPTC/UNEP, August 1996.
- Hazardous Substances Data Bank (HSDB). National Library of Medicine (NLM), USA. CHEMBANK CD-ROM-udgave, ajourføres kvartårligt. Findes også online.
- Richardson ML (ed). The Dictionary of Substances and their Effects. Bind 1-7. London: Royal Society of Chemistry, 1992-94.
- Schou JS (ed). Toksikologi. København: Nyt Nordisk Forlag,

1984.

TOXLINE database. National Library of Medicine (NLM), USA.
CHEMBANK CD-ROM-udgave, ajouføres kvartårligt. Findes
også online.

World Health Organization (WHO). Environmental Health
Criteria. Bind 1-. Geneve: WHO, 1976-. Monografiserie.
Der kommer stadig nye bind til.

Miljøtoksikologi

Rapporter og arbejdsrapporter fra miljøforskningsprojekter.
København: Miljøstyrelsen, -1998.

Rippen G (ed). Handbuch Umwelt Chemikalien. Landsberg/Lech:
Ecomed, 1996.

Verschueren K. Handbook of Environmental Data on Organic
Chemicals. 3. udgave. New York: Van Nostrand Reinhold,
1996.

Specifikke effekter

Hud og allergi

Cronin E. Contact Dermatitis. Edinburgh: Churchill Livingstone,
1980.

Fisher AA. Contact Dermatitis. 3. udgave. Philadelphia: Lea &
Fibiger, 1986.

Foussereau J, Benezra C, Maibach H. Occupational Contact
Dermatitis. Clinical and Chemical Aspects. Copenhagen:
Munksgaard, 1982.

Grandjean P. Skin Penetration. Hazardous Chemicals at Work.
London: Taylor & Francis, 1990.

Marzulli FN, Maibach HI (eds). Dermatotoxicology. 4. udgave.
New York: Hemisphere, 1991.

Thomsen KG. Allergi- og overfølsomhedsfremkaldende stoffer i
arbejdsmiljøet. AMI-rapport nr. 33/1990. København:
Arbejdstilsynet/Arbejdsmiljøinstituttet, 1990.

Øjne

Grant WM, Schuman JS. Toxicology of the Eye. 4. udgave.
Springfield, Illinois: Charles C. Thomas Publisher, 1993.

Nervesystem

Johnsen H, Lund SP, Matikainen E, Midtgård U, Simonsen L,
Wennberg A. Occupational neurotoxicity: Criteria document for
evaluation of existing data. Copenhagen: Nordic Council of
Ministers & National Institute of Occupational Health,
Denmark, 1992.

Lund SP, Simonsen L, Lyngenbo O, Stærmose AV.

Nervesystemskadende stoffer i arbejdsmiljøet. En kortlægning. At-rapport nr. 13/1990. København: Arbejdstilsynet, 1990.

Kræft og arveanlæg

International Agency for Research on Cancer (IARC).

IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Bind 1-70. Lyon: IARC, World Health Organization, 1972-98. Monografiserie. Der kommer stadig nye bind til.

International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Supplement 4. Lyon: IARC, World Health Organization, 1982.

International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Supplement 6. Lyon: IARC, World Health Organization, 1987.

International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Supplement 7. Lyon: IARC, World Health Organization, 1987.

Reproduktionsskader

Barlow SM, Sullivan FM. Reproductive Hazards of Industrial Chemicals. An evaluation of animal and human data. London: Academic Press, 1982.

Hass U, Jakobsen BM, Brandorff NP, Jernes JE, Petersen SH. Reproduktionsskadende kemiske stoffer i arbejdsmiljøet. AMI-rapport nr. 35/1991. København: Arbejdstilsynet/Arbejds miljø-instituttet, 1990.

MAK-Kommission. Sammelkapitel MAK-Werte und Schwangerschaft. I: Gesundheitsschädliche Arbeitstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft, 1995.

Norpoth K, Waschinsky S. Dokumentation der Methoden und Ergebnisse publizierter Teratogenesestudien. Dortmund: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Unfallforschung, 1983; Sonderschrift Nr. 10.

Schardein JL. Chemically Induced Birth Defects, 2. udgave. New York: Marcel Dekker, 1993.

Shepard TH. Catalog of Teratogenic Agents. 8. udgave. Baltimore: The John Hopkins University Press, 1995.

Sullivan FM, Watkins WJ, van der Venne MTh (eds). The Toxicology of Chemicals - Series Two: Reproductive Toxicity. Vol. I. Summary Reviews of the Scientific Evidence. Luxembourg: Commission of the European Communities, 1993.

Forgiftninger mv

- Beredskabsstyrelsen. Indsatskort ved kemikalieuheld. Birkerød: Beredskabsstyrelsen, seneste udgave 1998. Opdateres hvert år.
- Ellenhorn MJ, Barceloux DG. Medical Toxicology: Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1988.
- Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA et al. Goldfrank's Toxicological Emergencies. 5. udgave. Norwalk: Appleton & Lange, 1994.
- Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC. Clinical Toxicology of Commercial Products. 5. udgave. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984.
- Haddad LM, Winchester JF. Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose. 3. udgave. Philadelphia: WB Saunders Co, 1998.
- Sullivan JB, Krieger GR (eds). Hazardous Materials Toxicology: Clinical Principles of Environmental Health. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992.

Anneks 2

Fagtidsskrifter

Arbejds miljøtoksikologi

- Arbete och hälsa (oversigter, vurderinger)
- American journal of industrial medicine
- CA Selects. Chemical hazards, health and safety (referatidsskrift)
- Scandinavian journal of work, environment and health
- Toxicology and industrial health

Toksikologi

- Adverse drug reactions and toxicological reviews (oversigter, vurderinger)
- Annual review of pharmacology and toxicology (oversigter, vurderinger)
- Archives of toxicology
- Biological and pharmaceutical bulletin
- Cell biology and toxicology
- Chemical research in toxicology
- Critical reviews in toxicology (oversigter, vurderinger)
- Drug and chemical toxicology
- Drug safety
- Excerpta Medica Section 52, Toxicology (referatidsskrift)

Food and chemical toxicology
Fundamental and applied toxicology
Human and experimental toxicology
Journal of applied toxicology
Journal of biochemical toxicology
Journal of pharmacological and toxicological methods
Journal of toxicology and environmental health
Natural toxins
Pharmacology and toxicology
Regulatory toxicology and pharmacology (oversigter, vurderinger)
Toxicology
Toxicology abstracts (referatidsskrift)
Toxicology and applied pharmacology
Toxicology letters

Miljøtoksikologi

Archives of environmental contamination and toxicology
Archives of environmental health
Bulletin of environmental contamination and toxicology
Ecotoxicology and environmental safety
Journal of toxicology and environmental health

Specifikke effekter

Immunotoksikologi

Immunopharmacology and immunotoxicology

Nervesystem

Neurotoxicology
Neurotoxicology and teratology

Kræft og arveanlæg

Cancer research
Carcinogenesis
CA Selects. Carcinogens, mutagens and teratogens (referatidsskrift)
Mutation research (4 sektioner)
- Fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis
- DNA repair
- Genetic toxicology and environmental mutagenesis
- Reviews in mutation research

Reproduktionskader

Reproductive toxicology
Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis

Anneks 3

Danske videncentre

Vedrørende adresser og telefonnumre henvises til Nyttige Arbejdsmiljøadresser, som er udgivet af Arbejdsmiljøfondet, og til telefonbøger. Endvidere kan man finde WEB-sider og e-mail adresser via de danske oplysningstjenester på internettet.

Myndigheder og sektorforskningsinstitutter

- ◆ Arbejdstilsynet: direktorat, kredse og kemiservice
- ◆ AMI - Arbejdsmiljøinstituttet
- ◆ DMU – Danmarks Miljøundersøgelser
- ◆ Institut for Fødevarerikkerhed og Toksikologi
- ◆ Miljøstyrelsen
- ◆ SIS - Statens Institut for Strålehygiejne
- ◆ Sundhedsstyrelsen

Offentlige institutioner

- ◆ Arbejdsmedicinske klinikker (én i hvert amt)
- ◆ Giftinformationen, Arbejdsmedicinsk klinik, Bispebjerg hospital

Forskningsbiblioteker o.l.

- ◆ Arbejdsmiljøinstituttets bibliotek
- ◆ Arbejdstilsynets bibliotek
- ◆ Danmarks farmaceutiske Højskoles Bibliotek
- ◆ Danmarks natur- og lægevidenskabelige bibliotek
- ◆ Danmarks tekniske videncentre og bibliotek
- ◆ Danmarks veterinær- og jordbrugsbibliotek
- ◆ Miljøstyrelsens bibliotek
- ◆ Odense universitetsbibliotek
- ◆ Roskilde universitetsbibliotek
- ◆ Statsbiblioteket
- ◆ Ålborg universitetsbibliotek
- ◆ Universitetsinstitutters lokale biblioteker

Universitetsinstitutter

- ◆ Farmakologisk Institut, København Universitet
- ◆ Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Århus Universitet
- ◆ Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Odense Universitet

Konsulentvirksomheder

GTS-institutter (godkendte teknologiske serviceinstitutter)

- ◆ dk-Teknik
- ◆ DTC - Dansk Toksikologi Center
- ◆ DTI Miljø

BST-centre

Private servicevirksomheder

- ◆ Miljøkemi - Dansk Miljøcenter

Faglige foreninger

- ◆ Dansk Arbejdsmedicinsk Selskab
- ◆ Dansk Selskab for Teknisk Arbejdshygiejne
- ◆ Farmakologisk og Toksikologisk Selskab
- ◆ Selskab for Arbejds miljø
- ◆ Selskab for Miljøkemi

Stikord - bind I - II

A

Absorption I:28, 58
 - peroral I:35
 - pulmonal I:30
 Absorptionsfraktion I:36, 61
 Absorptionshastighed I:35
 Absorption, dermal I:28
 Acetylators, slow I:49
 - rapid I:49
 ACGIH I:221
 Acrylamid II:244
 Acrylonitril II:244
 Adaption I:24
 Additiv effekt I:25
 Adfærdsmæssige effekter II:257
 ADI-værdier I:95
 Adjuvanseffekt II:166
 Adrenalin II:259
 Affinitet I:19
 Aflivning I:80
 Agonist I:19
 Akkumulation I:17
 Akson II:211
 Aksonal transport II:216
 Aksonet (nerveudløber) II:207
 Aktionspotentialer II:209, 211
 Aktiv transport I:28
 Aktivering, metabolisk II:46
 Akut stress II:254
 Akut toksicitet I:81
 Alder I:24, 50
 Alfa-1-antirypsin I:197, 198, 200, 206
 Allergi I:168, 185, 200, 204, II:146, 172
 - kriterier for II:197
 Allergilister II:197
 Allergisk alveolit II:185
 Allergisk astma II:180
 Allergisk kontaktestem II:177
 Aluminium II:243
 Ames test II:28

Amning I:57
 Anaboliske processer II:255
 Analogislutninger II:127
 Analysemetoder I:173
 Androgen receptor assay II:126
 Anekdotiske observationer II:84
 Aneugene stoffer II:40
 Antagonisme I:25
 Antagonist I:20
 Antigenpræsenterende celler (AP-celler) II:150
 Antistoffer I:169
 Antistofklasser II:153
 Arbejdsbelastning I:156
 Arbejdsdygtighed I:204
 Arbejdsmedicin I:183
 Arbejdsmiljørådet I:220
 Arbejdstilsynet I:220, II:92
 Artsvariation I:49
 Art-til-art sammenligning I:123
 Arveanlæg (DNA) II:10
 Arveligt materiale II:12
 Aryl hydrocarbon (AH) receptor assay II:126
 Astma I:169, 204, II:195
 Atopi II:174
 ATP I:112
 AUC I:62

B

Bakterietests II:28
 Barrierer, biologiske II:16
 B-celler II:153
 Befolkningsundersøgelser, analytiske II:115
 - beskrivende II:115
 Beta-endorfin II:265
 Bevægeapparatbelastninger I:166
 BIAS I:128, 134
 - andre former I:137
 Bias-minimering I:142

Bilæz udskillelse I:52
 Bindende grænseværdier I:222
 Bioaktivering I:48
 Biologisk halveringstid I:60, 63, 172
 Biologisk monitoring I:157
 Biologiske barrierer II:16
 Biologiske grænseværdier (BLV) I:177, 218, 242
 Biologiske membraner I:25
 Biomarkører I:156, 202
 Biomedicinske forskningsprojekter I:204
 Biotilgængelighed "F" I:62
 Biotilgængelighed I:64
 Biotransformation I:44, 172
 Blandinger I:235
 Blod I:169
 Blodglucose II:264
 Blod-hjerne barriere I:42
 Bly I:179, II:223, 242
 Blærecancer I:161
 Branchebilleder II:93
 Brodie-Gillettes kasse-model I:36
 Brystkræft I:208, II:67
 BST-centre I:269

C

Calciumkanaler II:212
 CAM, den chorioallantoide membran I:117
 CAM-test I:118
 Cancerepidemiologi II:84
 Cancerregistret II:65
 Carbamater II:246, 248
 Carbondioxid II:241
 Carbondisulfid II:244
 Carbonmonoxid II:241, 242

- Carcinogenese II:72
 Carcinogenese, kemisk II:50
 Carcinogener, kemiske I:238, II:71
 Case-referent undersøgelse I:139
 CAS-nummer I:249
 Cellebeskadigelse I:111
 Cellefunktion I:104
 Celle-medieret immunitet II:157, 159
 Cellemembran I:25
 Celler, slimproducerende I:31
 Cellecycklus II:15
 Celletoksicitet I:121
 Cellulosefortynder II:246
 Central kompartment (blod) I:58
 Centralnervesystem (CNS) I:161
 Cerebrale symptomer I:145
 Cholinesterase I:162
 Chow-foder I:79
 Chrom I:170
 Cisplatin I:181
 Clearance, den totale I:60, 63
 - den renale I:60
 CORROSITEX™ test I:110
 CT-skanning II:237
 Cyanid II:241
 CYP 450-varianter I:195
 CYP1A1 I:195
 CYP2D6 II:196
 CYP2E1 I:195
 Cystostatika I:181
 Cyt.P450-system I:56
 Cytochrom P450-system I:47
 Cytogenetisk test II:51
 Cytokrom P-450-enzym I:195
 Cytotoksisk effekt II:18
- D**
 Danske regler II:87
 Data fra dyreforsøg I:233
 Data, humane I:232
- Databaser I:251
 Databaseværter I:255
 Datakilder I:250
 Datasøgning I:249
 Dehydroepiandrosteron (DHEA) II:265
 Demyelinisering II:213
 Dendritter II:207
 Dermal absorption I:28
 Dermis I:28
 Det enterohepatiske kredsløb I:53
 DHEA II:266
 Dietary Restriction (DR) I:80
 Diethylether, halothan II:246
 Diffusion I:26, 57
 Diffusionshastighed I:27
 Dimethylsulfoxid (DMSO) I:30
 DNA I:112
 DNA-addukter I:159, 163, II:16
 DNA-analyse I:207
 DNA-molekyler II:12
 DNA-repair II:32
 DNA-reparation I:198
 DNA-reparationsaktivitet I:164
 DNA-reparationsmekanismer I:199
 DNA-sekvens II:10, 14
 DNA-skade I:163
 DNA-skader, primære II:16
 DNA-syntese (UDS) I:164
 DNA-syntese II:81
 DNA-teknikker II:11, 32
 Dokumentation I:234
 Dominant letal-test II:42
 Dopamin I:162
 Dosering I:80
 Dosering, gentagen (kronisk) I:85
 - gentagen (subkronisk) I:85
 Dosis I:61
 Dosis-effekt I:202
 Dosis-effekt relationer I:177
 Dosis-respons II:181
 Dosis-respons relation I:20
- Dynamisk ligevægt I:66
 Dyr, kimfri I:77
 Dyreart I:74
 Dyreeksperimentelle testmetoder II:166
 Dyreeksperimentelle undersøgelser II:117, 122
 Dyreetiske hensyn I:71
 Dyreforsøg I:233, II:85
 - lov om I:94
 Dyremodeller I:72, II:193
 Dyrestamme I:74
- E**
 ECVAM I:93
 EF-direktiv I:183
 Effekt I:28
 Effekt, "first pack" I:62
 Effekt, lokal I:17
 - organspecifik I:18
 - systematisk I:18
 Effekter, genotoksiske I:102
 Effekter, non-mutagene II:56
 Effektmodifikation I:128, 131, 132
 Eksperimentel toksikologi I:13
 Eksponering, akut I:16
 - kronisk I:16
 - subakut I:16
 - subkronisk I:16
 Eksponeringskontrol I:183
 Eksponeringsmarkører I:159, 162
 Eksponeringsscenarier II:90
 Eksponeringsveje I:17
 Eksponeringsvurderinger I:14
 Ekstrapolation I:69
 Electro Encephalografi (EEG) II:233
 Elektoretinogrammer II:219
 Elimination I:44
 Embryonale periode, den II:108

- Endepunkter, genetiske II:20
 Endoplasmatisk retikulum I:45
 Én-kompartiment model I:58
 Enzymer, metaboliserende I:194
 Enzymhæmning I:51
 Enzyminduktion I:51
 Enzymsystemer, mikrosomale I:44
 Epidemiologi, analytisk I:128
 - toksikologisk I:128
 Epidemiologiske undersøgelser II:84
 Epidermis I:28
 Ernæringsstilstand I:50
 Etik I:203
 Etisk debat I:206
 Etisk spørgsmål I:191
 Etske overvejelser I:182
 Etnisk/genetisk variation I:49
 EU-kriterier II:128
 EU-regi I:183
 Evoked potentials (EVP) II:233
 Extensive Metabolizers (EM) I:196
 EYTEX™ test I:109
- F**
 Faglige foreninger I:269
 Fagocytose I:33
 Fagtidsskrifter I:266
 Faktorer, fysiologiske I:50
 - ydre I:50
 Falsk negative testresultater II:45
 Falsk positive testresultater II:45
 Farlighedsvurderinger I:14
 Fase 1 metabolisme I:194
 Fase 2 metabolisme I:194
 Fase I reaktion I:46, 47
 Fase II reaktion I:46, 47
- Fearon-Vogelstein modellen II:76
 Fedtvæv I:171
 Fertilitet II:26, 101
 Fibroblaster I:119
 Ficks lov I:26
 Filtration I:54
 Fimrehår I:31
 First pass effekt I:62
 Flertrinstestning II:58
 Foder (fodring) I:78
 Fodring (foder) I:78
 Forbrændingsprodukter I:159
 Fordelingsforhold I:33, 35, 44
 Fordelingsforhold blod/luft I:57
 Fordelingsforhold organ/blod I:57
 Fordelingskoefficient I:108
 Fordelingsrum, det tilsyneladende V_d I:38
 Fordelingsrum I:37, 61
 Forebyggelse, primær II:200
 - sekundær II:201
 Forebyggelsesstrategier II:83
 Forplantning II:106
 Forskningsbiblioteker I:268
 Forsvarsmekanismer II:79
 Forsøgsallergener II:183
 Forsøgsdyrarter I:87
 Forudsigelsesmodel I:107
 Forudsigelsesværdi II:48
 Fosterperiode II:109
 Fosterskader I:88, II:100, 106
 Fostertilstand II:104
 Fostervand I:43
 Fototoksicitet I:122
 Fremmedlegemer II:156
 Freon 113 II:246
 Fri fraktion I:37, 42, 55
 Frit vævsdepot I:37
 Frie radikaler I:52
 Functional Observational Battery (FOB) II:229
 Fyldningsgrad I:35
 Fysiologisk model I:40
- Fysiologiske effekter, akutte II:257
 Fysiologiske faktorer I:24, 50
 Fysiologiske forhold I:77
 Fænotype I:161, 183
 Føde I:175
 Følsomhed I:160
 - individuel I:190
 - øget I:192
 Følsomhedsgener I:193
- G**
 Gasser (dampe) I:31, 33
 Gasser, metaboliserbare I:35
 Generationsforsøg II:118
 Genernes rolle I:200
 Genetisk materiale II:19
 Genetisk monitorering II:12, 51
 Genetisk screening I:191, 206
 Genetisk test I:208
 Genetisk variation I:23
 Genetiske dispositioner I:192
 Genetiske endepunkter II:20
 Genetiske forhold I:23
 Genetiske skader II:22, 26
 Genetiske tests I:200
 Genetiske ændringer II:24
 Genmutationer II:11, 113
 Genotoksicitet I:89, II:10
 Genotoksiske effekter I:102
 Genotoksiske kemikalier II:17
 Genotype I:161
 Giftinformation I:260
 Giftlære I:10
 Gliaceller II:209
 Glial fibrillary acid protein (GFAP) II:234
 GLP I:92
 Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G-6Pdh) I:190
 Glutathion S-transferaser

(GST) I:196
 Glutathionkobling I:48
 Glutathion I:52
 Grænsestreng II:217
 Grænseværdier I:212
 - bindende I:222
 - biologiske I:177, 218, 228, 242
 - definition af I:216
 - hygiejniske (HGV) I:215
 - i EU I:222
 - pragmatisk/bindende I:225
 - retningsgivende (indikative) I:222
 - sundhedsbaserede I:225
 GV (grænseværdi) I:216
 Gærtests II:24

H

Halveringstid, biologisk I:60, 63, 172
 Handskemateriale I:29
 Handsker I:29
 HbA_{1c} II:264
 Helbredsrisiko I:157
 Helbredstest I:190, 204
 Henderson-Hasselbach ligning I:27, 55
 Henles slynge I:56
 Hepatitis virus II:90
 Hexacarboner II:246
 Histidin-mutation II:29
 Hjerne-kar lidelser I:200
 Homeostase II:255
 Hormoneffekter II:125
 Hormoner I:167, 185
 HPRT-test II:33
 HTD (Highest Tolerated Dose) I:114
 Hudirritation I:84
 Hudkræft II:69
 Hudnotation I:240
 Hudoptagelse I:228
 Humane data I:232
 Humoral (antistofafhængig) immunitet II:157, 160
 Husstøvmider II:183
 Hvilepotentiale II:210

Hydrogenperoxid I:51
 Hydrogensulfid II:241
 Hydroxylradikal I:51
 Hygiejniske grænseværdier ((HGV) I:215
 Hæmaglobin I:164
 Hæmatoxylen-farve II:231
 Høfeber II:180
 Hørelse II:219
 Høreskade II:222
 Håndbøger, opslagsværker mv I:261
 Hårceller II:219

I

IARC-liste II:88
 Iltforbindelser, reaktive I:51
 Immunforsvar II:146
 Immunpatologi II:157
 Immunsuppressive påvirkninger II:161
 Immunstimulation II:146, 162
 - testmetoder for II:164
 Immunsuppression II:80, 146
 Immunsuppressive stoffer II:163
 Immunsystemet II:147, 270
 In vitro forsøg I:102
 In vitro systemer I:105
 In vitro tests II:124
 In vitro toksikologi I:102
 In vivo forsøg I:106
 In vivo respons I:105
 In vivo tests, korttids II:120
 Incidens I:130
 Incidensanalyse I:131
 Incidensrate, den kumulative I:130
 Indavl I:75, 76
 Indeklimaproblemer I:167
 Industrikemikalier II:224
 Inflammatorisk reaktion II:155
 Informationsbias I:136
 Initering II:77

Interaktioner I:24
 International Labour Organisation (ILO) I:217
 Internet I:256
 Ionkanaler II:211
 Ion-trapping I:27
 Irritation II:180

K

Kaliumkanaler II:212
 Kataboliske processer II:255
 Kemikalier, genotoksiske II:17
 Kemiservice I:260
 Kemisk carcinogenese II:50
 Kemiske carcinogener I:238, II:71
 Kemiske klastogener II:37
 Kemoprævention II:86
 Keratinocytter I:119
 Key-documents I:226
 Kimfri dyr I:77
 Kinetiske forhold II:110
 Klassificering I:95
 Klastogener, kemiske II:37
 Klinefelter's syndrom II:106
 Klinisk toksikologi I:11
 Knoglevæv I:42
 Kohorteundersøgelse I:140, II:116
 Kolesterol II:264
 Komet assay II:35
 Kompartiment I:38
 Kompetitiv I:20
 Kompetitiv hæmning I:55
 Kompleksbinder I:36
 Komplementsystem II:155
 Konfounder I:128, 133
 Konsulentvirksomheder I:268
 Kontaktallergener, vigtige II:198
 Kontaktallergi I:84, II:178

- sensibilisering II:177
 - udløsning II:177
 - Kontaktseksem II:173
 - Kontraktilitet I:103
 - Kortisol II:261
 - Korttidforsøg II:86
 - Korttidsgrænseværdi (STEL) I:235
 - definition af I:235
 - Kredsløb, det enterohepatiske I:53
 - systemisk I:62
 - Krigsgasser II:224
 - Kriteriedokumenter I:226
 - Kriterier for allergi II:196
 - Kromosomafvigelsesanalyse II:38
 - Kromosomafvigelser I:90, 185, II:26, 36, 113
 - numeriske II:42
 - strukturelle II:42
 - Kromosomale mutationer II:36
 - Kromosomfejl II:107
 - Kromosomskader I:197, II:53
 - Kronisk stress II:255
 - Krydsallergi II:184
 - Kræft I:87, 185
 - Kræft, forebyggelse af II:83
 - Kræftformer I:200
 - Kræftfremkaldende stoffer, registrering af II:92
 - Kræftgener I:164
 - Kræfthypighed I:160
 - Kræftudvikling II:64, 68
 - Kvalitetskontrol I:93
 - Kvalitetsudvalg, videnskabeligt I:219
 - Kviksølv II:242
 - Kønscellemutagen II:42
 - Kønshormonbalance II:106
- L**
- Laboratorieundersøgelser I:233
 - Lappetest II:188
 - LC₅₀ I:20, 82
 - LD₅₀ I:20, 82, 114, 115
 - Letal-test, dominant II:42
 - Ligevægt, dynamisk I:66
 - Lillehjerne II:216
 - Lipidopløselighed I:27
 - Lipofile substanser I:36
 - Livstidsprævalens I:129
 - LOAEL (lowest observed adverse effect level) I:22
 - LOEL (lowest observed effect level) I:22
 - Loftsværdier I:218
 - Lokal effekt I:17, 28
 - Loudness recruitment II:221
 - Lovgivning II:57, 202
 - Lovgivning og etik I:203
 - Lovgivningskrav I:156
 - Luftmålinger I:181
 - Luftvejsallergi II:175, 190
 - Luftvejssensibiliserende stoffer I:239
 - Luftvejsensibilisering I:240
 - Lungekræft II:66
 - Lungesyntomer I:198
 - Lymfocyt-proliferationstest (LTT) II:189
 - Lymfocytter II:44, 148
- M**
- MAK I:221
 - Makroglia II:209
 - Maksimaleffekt I:19
 - Mangan I:163, 184, II:242
 - Manganesponering I:176, 181
 - Markører I:203
 - MAS-værdi I:108
 - Mave- og tyktarmskræft II:66
 - Maximum Tolerated Dose (MTD) I:88
 - Melatonin II:270
 - Membraner, biologiske I:25
 - Metaboliserende enzymer I:194
 - Metabolisering (biotransformation) II:111
 - Metaboliseringsreaktion, toksisk I:51
 - Metabolisk aktivering I:106, II:46
 - Metabolisk aktivering (S9-mix) II:29
 - Metabolisme I:103, 170, 197
 - Metabolitter, reaktive I:47
 - Metaleksponering I:182
 - Metaller II:224
 - Methylenchlorid II:246
 - Middelplassmakoncentration I:65
 - Mikrobiologisk status I:76
 - Mikroglia II:209
 - Mikrokerner II:40
 - Mikrokernetest II:38
 - Mikrosomale enzymsystemer I:44
 - Miljøpåvirkning I:193
 - Miljøstyrelsen II:92
 - Misdannelsesregistret II:101
 - Modellering I:180
 - Modstandsdygtighed II:157, 161
 - Molekylærepidemiologiske undersøgelser I:202
 - Monitering, biologisk I:157
 - genetisk II:12, II:51
 - Moniteringsprogrammer I:183
 - Monogene sygdomme I:192, 207
 - Morris Water Maze II:236
 - Motilitet I:35
 - MPTP II:223, 249
 - MTT-test I:116
 - Muse-lymfom test II:34
 - Mutagener I:239
 - Mutationer, punkt- II:28
 - Myndigheder og sektorforskningsinstitutter I:268
 - Målefejl I:173
 - Måleresultater, fortolkning af I:182
 - Målestrategi I:157

N

N-acetyltransferase (NAT) I:196
 Na-K-ATP-ase II:211
 Natrium-kalium-ATP-ase II:210
 Natriumkanaler II:212, 225
 Nefronet I:54
 Nernst ligning II:210
 Nerveskader, medfødte II:119
 Nervesystem, perifere (PNS) I:161
 Neurofarmaka II:224
 Neurofibriller II:216
 Neurologisk undersøgelse II:236
 Nerveledningshastighed II:236
 Neurologiske symptomer II:224
 Neuroner II:207
 Neurotoksicitet I:89, 162, II:228
 Neurotoksicitetstest II:229
 Neurotoksin II:224
 Neurotransmittere I:103, II:215
 N-hexan II:223
 Nissel farvning II:232
 Nitrogenoxid II:241
 NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) I:22, 70
 NOEL (No Observed Effect Level) I:22
 Nonkompetitiv I:20
 Non-mutagene effekter II:56
 Noradrenalin II:259
 NRU-test (neutralrødt optagelsestest) I:115

O

Observationer, anekdotiske II:84
 Odds ratio (OD) I:132
 OECD-guidelines I:90, II:27

Offentlige institutioner I:268
 Oogenese (ægceller) II:105
 Opheling II:156
 Opslagsværker, håndbøger mv I:261
 Opstaldning I:80
 Optagelsehastighed I:35
 Organochlor II:249
 Organspecificitet I:18
 Organophosphater II:247, 249
 Ostwalds koefficient I:34
 Overfølsomhed II:176
 Oxidativt stress I:52, 164 II:272

P

Pacth-Clamp II:233
 Papilskader I:55
 Parasympatiske system II:218
 Partialtryk I:34, 43
 Partikler I:31
 Passiv rygning I:167
 PCA "mønstergenkendelse" I:180
 PCR-teknik I:200
 Perifert kompartment (muskler, fedtvæv, knogler etc) I:58
 Perifere nervesystem I:161
 Peroral absorption I:35
 Personlighedstype I:166
 Pesticider I:162, 185, II:224
 Petroleum II:246
 pH I:35
 Philadelphia kromosomer II:74
 Placenta I:43
 Placenta-barriere II:111
 Plasmaalbumin I:42
 Plasmalipider II:264
 Plasmaproteinbinding I:41
 Plastbase I:250
 Poor Metabolisers (PM) I:196
 Populationsundersøgel-

ser I:174
 Positive/negative resultater II:45
 Positron emissions tomografi (PET-skanning) II:238
 Potentiering I:25
 Primære DNA-skader II:16
 Primæurin I:55
 Probitberegning I:22
 Produktdata, kontoret for II:92
 Produktregistret II:92
 Progression II:80
 Prolaktin I:163, II:269
 Promotion II:79
 Proteinbinding I:55
 Prædiktivitet II:54
 Prævalens I:129
 Prævalensproportions ratio (PPR) I:132
 Prøvemateriale I:169
 Prøvetagningsstrategi I:171
 Prøvetagningstidspunkt I:172
 Psykisk arbejdsmiljø I:166
 Psykosociale påvirkninger I:166
 Pulmonal absorption I:30
 Pulmonal udskillelse I:57
 Punktmutationer I:90, II:28
 Pyrethroider II:247, 249
 Påvirkninger i arbejdsmiljøet, immunsuppressive II:162
 - psykosociale I:166

Q

QSAR I:18, 121
 QSAR-system I:109

R

Ranviersk indsnøring II:213, 225, 248

- Reabsorption I:55
 Receptorer I:19, II:212
 Referencegrupper I:174
 Referencegrænser I:176
 Referenceværdier, biologiske I:175
 Registerkrav I:205
 Registrering af kræftfremkaldende stoffer II:92
 Relativ risiko I:132
 Renal elimination I:54
 Reparationssystemer I:159
 Reproducerbarhed I:203
 Reproduktion I:88
 Reproduktionsskader II:100
 Reproduktionstoksikologi I:238
 Revisionsudvalg I:220
 Risiko ratio (RR) I:132
 Risiko, relativ I:132
 Risikofaktorer I:131, II:87
 Risikogrupper I:202
 Risikovurdering I:81, 94
 Rossums formel I:64
 Rygevaner I:203
 Rygmarv II:217
 Rygning, passiv I:167
- S**
 Safety toxology I:12
 Samtykke I:205
 Samtykke, indhentelse af I:205
 Sansepotentiale II:218
 Scientific Expert Group (SEG) I:222
 SCOEL (Scientific Committee for Occupational Exposure Limits) I:220, 222
 Screening, genetisk I:191, 206
 - toksikologisk I:248
 Sekretion I:55
 Selektionsbias I:134
 Sektorforskningsinstitutioner og myndigheder I:268
 Selektiv toksicitet I:18
 Semisyntetisk foder I:79
- Sensitivitet I:138
 Short Term Exposure Limits (STEL) I:217
 Signalbehandlingsenhed II:215
 Sikkerhedstoksikologi I:12
 Skader, genetiske II:22, 26
 Slimproducerende celler I:31
 Soma (cellekrop) II:207
 Somatotropin (væksthormon) II:268
 SOS repair (error prone repair) II:31
 Specificitet I:138
 SPECT-skanning II:237
 Spermatogenese II:103
 SPF-status (Specificeret Patogen Fri) I:77
 Sporbarhed I:173
 Standardforskrifter I:93
 Stave II:218
 Steady state niveau I:64, 65
 Sterilitet II:26
 Storhjerne II:216
 Stress, akut II:255
 - kronisk II:255
 - oxidativt I:52, 164
 II:272
 Stressor II:255
 Stresspåvirkninger I:166
 Struktur-aktivitet (QSAR) I:18
 Struktur-aktivitetsmodeller II:196
 Struktur-aktivitetsrelationer II:86
 Styren II:243, 244, 246
 Substanser, lipofile I:36
 SUBTEC-program I:250
 Sundhedsrelateret grænseværdi I:216
 Sundhedsstatus I:50
 Sundhedstilstand I:172
 Superoxid I:51
 Sygdomme, arvelige I:198
 - monogene I:192, 207
 Sygdomshistorie I:200
 Sygdomsrisiko I:180
 Sygdomsudvikling I:202
 Sympatiske system II:218
- Symptomer, neurologiske II:224
 Synapse II:209
 Synapsepotentiale II:212
 Synergisme I:25
 Syntetisk foder I:79
 Systemisk effekt I:18, 28
 Systemisk kredsløb I:62
 Sædkvalitet II:100
 Søsterkromatidudvekslinger (SCE) II:41
 Sårbarhedsgener I:205
- T**
 Tappe II:218
 TDI-værdier I:95
 Tensionsligevægt I:34
 Teratogenforsøg II:118
 Terodotoksin II:223
 Terpentin II:246
 Synergisme I:25
 Testbatterier II:58
 Testmetoder, alternative I:94
 Testosteron II:267
 Testprotokoller II:57
 Testresultater, vurdering af II:45
 Teststammer II:33
 Testsystemer II:55
 Tetradotoksin II:225
 T-hjælper celler II:151
 Thyroxin II:269
 Tight Junctions II:223
 Tillægsrisiko I:141
 Tobaksrøg I:167
 To-kompartiment I:62
 To-kompartiment model I:58
 Toksicitet II:81
 - akut I:81
 Toksikodynamiske modeller I:106
 Toksikologisk screening I:248
 Toksikologiske oplysninger I:248
 2,4-D II:249
 Toluén II:245
 Tolerance I:24
 Transgene dyremodeller I:76
 Translokation-test II:43

Transmitter II:209
 Transport, aksonal II:216
 Trichloroethylen (TRD);
 1,1,1-Trichloroethan;
 Tetrachloroethylen
 II:245, 246
 Triethyltinhydroxid
 II:249
 Triglycerider II:264
 Tumorsuppressor-
 generne II:75
 Tværsnitsundersøgelse
 I:139
 TWA (Time Weighted
 Average) I:217
 Tærskelværdi II:216

U

Udskillelse, hud, hår,
 spyt og sved I:58
 - biliær I:52
 - mælk I:57
 - pulmonal I:57
 Udviklingsforstyrrelser
 II:102
 Udviklingsstadier II:102
 Udåndingsluft I:170
 Ultrarapid Metabolizers
 (UM) I:196
 Undersøgelser, molekyl-
 læreepidemiologiske
 I:202
 Universitetsinstitutter
 I:268
 Unscheduled DNA-syn-
 thesis II:44
 Urin I:170
 Usikkerhedsfaktorer
 I:236
 UV-A-bestråling I:120
 UV-stråling I:122

V

Valideringsprogram I:104
 Valideringsundersøgelser
 I:107
 Variation, etnisk/gene-
 tisk I:49
 Vaskularisering I:40

Videncentre I:259
 Videnskabsetisk selvde-
 klaration I:204
 Vigtige kontaktallergener
 II:198
 Vinyltoulen II:243, 244
 Væksthormon
 (Somatotropin) II:268
 Væv, fedtholdigt I:40
 Vævsprøver, banker I:205

W

WEB-steder, centrale
 I:256
 WHO-kriterier II:197

X

Xylen II:246

Y

Ydre faktorer I:50

Æ

Ægceller (oogenese)
 II:105
 Ændringer, genetiske
 II:24

Ø

Øjenirritation I:83, 168
 Østrogen II:267
 Østrogen receptor assay
 (MCF7 celle proliferati-
 ons assay) II:126

Å

Åndedrætsværn I:157


**Basisbog i
Toksikologi i arbejdsmiljøet
Bind I-II**

Toksikologi i arbejdsmiljøet - Bind I omfatter toksikologiske grundprincipper og mekanismer samt metoder til undersøgelse af toksiske effekter. Derudover indgår der kapitler om individuel følsomhed, biomarkører, toksikologi i relation til grænseværdier samt en oversigt over håndbogslitteratur, videncentre og databaser omhandlende toksikologi.

Toksikologi i arbejdsmiljøet - Bind II omfatter hovedeffektområderne genotoksikologi, kræft, reproduktionstoksikologi, immuntoksikologi, allergi, neurotoksikologi samt hormoner og stress.



ami

 arbejdsmiljøinstituttet