

Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter?

Jorunn Berntzen

Masteroppgave i Medisin (MED-3950) Juni 2018

Forord

Jeg ønsket å skrive en masteroppgave som var et litteraturstudium, men var i tvil om hvilken problemstilling jeg skulle velge. Høsten 2016 tok jeg kontakt med Maria Averina, som er førsteamanuensis ved Institutt for medisinsk biologi ved Universitet i Tromsø, og Overlege ved diagnostisk klinikk ved Universitetssykehuset Nord-Norge. Hun foreslo å skrive en oppgave om metabolsk syndrom og diabetes type 2, og en mulig sammenheng de kan ha med miljøgifter, noe jeg syntes hørt svært spennende ut. Vi ble enige om at jeg skulle konsentrere meg om gruppen av miljøgifter kalt per- og polyfluorerte alkylstoffer (PFASer). Hensikten med oppgaven er å sette fokus på miljøgifter og hvilke uheldige helseeffekter de kan ha.

Høsten 2016 skrev jeg prosjektbeskrivelsen, men arbeidet med oppgaven kom først i gang sommeren 2017. Jeg startet med å sette meg inn i relevant litteratur, begynte å jobbe med innledningen, og gjorde et systematisk litteratursøk i august. I løpet av høsten og vinteren har jeg gjennomgått flere av artiklene som ble utvalgt fra litteratursøket, og det ble laget oppsummeringer for de enkelte studiene med de viktigste og mest relevante funnene. Mesteparten av oppgaveskrivingen har blitt gjort i mars-mai 2018.

Jeg vil gjerne takke min veileder, Maria Averina, for god veiledning og hjelp. Hun har bidratt med nyttige og konstruktive råd og tilbakemeldinger underveis i prosessen med oppgaveskrivingen. Vi har hatt jevnlig kontakt, og i hovedsak har kontakten foregått via e-post og telefon, siden jeg studerer de siste to årene av studiet i Bodø. Jeg vil også takke biveileder Mikhail Sovershaev for gode råd og hjelp i starten av skriveprosessen, og for hjelp til ferdigstillingen av oppgaven. Jeg er svært takknemlig for alt dere har bidratt med.

Jorunn Berntzen

Jorunn Berntzen

Rognan, 03.06.18

Innhold

Sammendrag	IV
Forkortelser	V
Innledning	1
Økende fedme og diabetes type 2 i verdens befolkning og i Norge	1
Presentasjon av problemstillingen, og Bradford Hills kriterier for å vurdere kausalitet	3
Miljøgiftstatus i verden og i Norge	6
Per- og polyfluorerte alkylstoffer	8
Hormonforstyrrende stoffer	11
Metode og materiale	13
Litteratursøket	13
Bruk av engelske ord	14
Om forkortelsene	15
Resultater til forskningsspørsmålet: Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter?	15
Dyrestudier	16
Cellestudier	18
Oppsummering av de mest konsistente funnene mellom celle- og dyrestudiene	19
Menneskestudier	22
Diskusjon	24
Plausible forklaringer	24
Er eksperimentelle funn på dyr overførbare til mennesker?	28
De epidemiologiske studiene: Assosiasjonens styrke	30
Forvirring mellom tilsynelatende kausale variabler	34
Assosiasjon mellom andre miljøgifter til diabetes type 2 og fedme?	36
Mikstureffekt av miljøgifter	38
Veien videre	39
Svakheter og styrker ved oppgaven	40
Konklusjon	42
Tabeller 1: Dyrestudier	44
Tabell 1.1: Mus eksponert til kun en dose av PFOA	46
Tabell 1.2: Mus eksponert til flere doser av PFOA	47
Tabell 1.3: Mus eksponert til PFOS	49
Tabell 1.4: Studier på mus som bruker to eller flere ulike PFASer	50
Tabell 1.5: Eksponerte rotter og katter	52
Tabell 1.6: Mus eksponert under svangerskap	53
Tabell 1.7: Mus og rotter eksponert under svangerskap og under ammeperioden	54

Tabeller 2: Cellestudier	56
Tabell 2.1: Aktivitet til enzymene glycerol-3-phosphate dehydrogenase og kolin kinase	57
Tabell 2.2: Effekt på reaktive oksygen spesies og en adipogenese-relatert signaleringsvei	58
Tabell 2.3: Effekt på cellestørrelse og celleantall	58
Tabell 2.4: Effekt på betaoksidering og termogenese.....	59
Tabell 2.5: Effekt på metylering	59
Tabell 2.6: Effekt på insulinstimulert glukoseopptak og pankreas morfologi.....	60
Tabell 2.7: Effekt på ekspresjon til proteiner relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen	61
Tabell 2.8: Effekt på innhold av lipider, triglyserider og total kolesterol i cellene.....	62
Tabell 2.9: Effekt på kjernereseptorer	63
Tabell 2.10: Effekt på ekspresjon til gener relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen	65
Tabell 3: Oppsummeringstabell av de mest konsistente funnene fra celle- og dyrestudiene.....	67
Tabeller 4: Epidemiologiske studier.....	69
Tabell 4.1: Tversnittstudier	70
Tabell 4.2: Kasus-kontrollstudier	72
Tabell 4.3: Prospektive kohortstudier.....	73
Referanseliste	75
Vedlegg: Artikkelsammendrag	81

Sammendrag

Bakgrunn: I hele verden har fedme og diabetes økt kraftig de siste 50 årene, og på samme tid har det blitt en drastisk økning i kjemikalier i miljøet vårt. Derfor har det blitt et økende fokus på hvorvidt disse kan spille en rolle til epidemien av fedme og diabetes. Problemstillingen ble formulert som forskningsspørsmålet: «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter»? Det ble tatt utgangspunkt i miljøgiftgruppen per- og polyfluoreerte alkylstoffer (PFASer). Bradford Hill sin liste med ni kriterier ble brukt for å vurdere kausalitet.

Metode: Det ble gjennomført et systematisk litteratursøk 08.08.17, og i ettertid har jeg fått oppdateringer fra søket via e-post frem til april 2018. 44 artikler utgitt mellom 2013-2018 ble inkludert i resultatene: 15 dyrestudier, 12 cellestudier, 7 studier som både er gjort på celler og dyr, og 10 epidemiologiske studier.

Resultat: Ved sammenligning av studier på dyr og celler eksponert til PFASer, viste det seg at de funnene som er mest konsistente og viser doseavhengige effekter, var: Økt lipid- og triglyseridinnhold i celler/vev; genespresjon og aktivering av kjernereseptorene peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-alpha og -gamma, som er viktig for lipidmetabolisme og energihomeostase; økt genespresjon av lipoprotein lipase (*LPL*) og CCAAT/enhancer-binding protein alpha (*CEBPα*) – to gen som er viktig for henholdsvis lipidopptak til lever og adipogenese. Økt levervekt og fettakkumulering i lever er to av de mest konsistente funnene blant dyrestudiene, i tillegg til forhøyete serumverdier av aspartat aminotransferase (ASAT) og alanin aminotransferase (ALAT). Redusert kroppsvekt de første leveuker melder to prenatale dyrestudier om, noe som er en risikofaktor for metabolsk sykdom senere i livet, og en av disse studiene rapporterte om at avkommet hadde tegn på diabetes som voksen. Flere studier i mennesker viser funn som taler for assosiasjon mellom diabetes type 2 og PFASer, men disse funnene er ikke konsistente. To tversnittstudier og en kasus-kontrollstudie rapporterte om positiv assosiasjon av PFAS-nivå med diabetes, men en kohortstudie viste ingen sterk assosiasjon mellom PFAS og diabetes type 2. To kohortstudier rapporterte om økt risiko for overvekt/fedme eller økt midjemål, mens en tredje kohortstudie meldte om økt risiko for lavere fødselsvekt.

Konklusjon: Flere studier i mennesker og i dyr taler for at eksposisjon til PFASer kan bidra til dyslipidemi, metabolsk syndrom og fedme/diabetes type 2 utvikling. Det er beskrevet plausible biologiske mekanismer for dette i cellestudier og i dyrestudier: PFASer påvirker flere aspekter av lipidmetabolismen og lipidopptak i leverceller. Forandringer i lipidmetabolismen er muligens det mest konsistente funnet blant alle studiene, og er kanskje den eneste assosiasjonen som tilfredsstiller flere av kausalitetskriteriene. Men det finnes ikke nok forskningsdata til å kunne påstå at det er en sikker kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og PFASer. Diabetes type 2 og fedme er multifaktorielle sykdommer, og det er behov for flere langsgående, store og gode prospektive studier, hvor konfunderende og modifierende variabler undersøkes og tas hensyn til, samt flere studier på dyr og celler for bakenforliggende mekanismer. Mikstureffekten av forskjellige miljøgifter burde også få økt fokus i fremtiden.

Forkortelser

Nedenfor er en oversikt over forkortelser som er brukt i selve oppgaveteksten. Ordforklaringer til tabellene som presenterer resultatene, ligger ved hver tabell til sist i oppgaven. For å kunne svare på problemstillingen på en best mulig og korrekt måte, har flere engelske ord, forblitt på engelsk. Hovedregelen for hvordan gener og proteiner oppgis i oppgaveteksten, er at symbolene (forkortelsene) til gener vil markeres med kursiv, mens symbolene til proteiner vil være uten kursiv. For mer utfyllende informasjon om bruk av engelske ord og forkortelser henvises det til Metode.

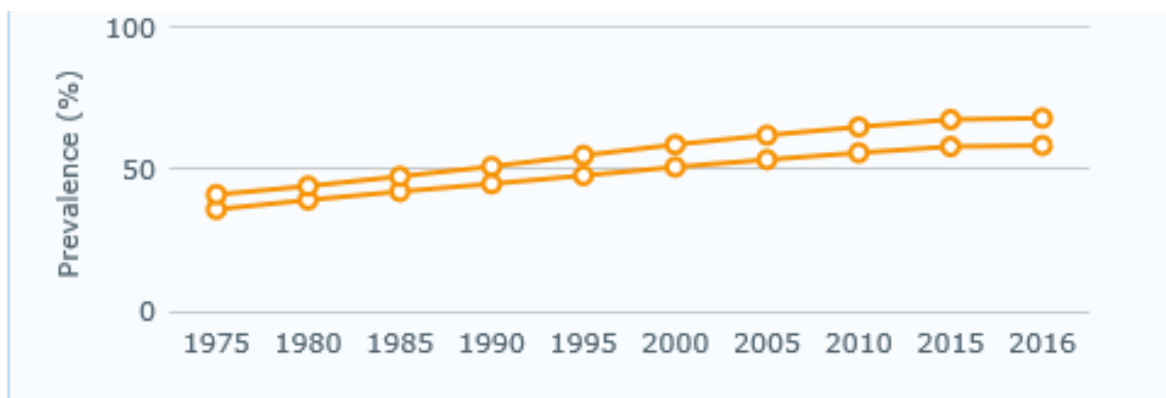
- Acox1, peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1;
- ALAT, alanin aminotransferase;
- Apo-B, apolipoprotein-B;
- Apoc3, apolipoprotein C-III;
- aP2, adipocyte protein 2;
- ASAT, aspartat aminotransferase;
- BMI, body mass index;
- CAR, constitutive androstane receptor;
- Cd-36, cluster of differentiation 36;
- Cebp α , CCAAT/enhancer binding protein α ;
- DDT, dibutyl phthalate;
- DMRs, differentially methylated regions;
- EDCer, hormonforstyrrende stoffer;
- ER, endoplasmatisk retikulum;
- Fabp1, fatty acid-binding protein 1;
- Fabp4, fatty acid binding protein 4;
- Fas, fatty acid translocase;
- FTOHer, fluortelomer alkoholer;
- Gclc, glutamate-cysteine ligase;
- GFR, glomerulær filtrasjonsrate;
- Glut4, glukosetransporter type 4;
- HbA1c, glykohemoglobin;
- HCB, hexachlorobenzene;
- HDL, high-density lipoprotein;
- Hnf4 α , hepatocyte nuclear factor 4 alpha;
- Igf-1, insulinlignende vekstfaktor-1;
- *In vitro*, brukt om cellestudier;
- *In vivo*, brukt om dyrestudier;
- Irs-1, insulin receptor substrate 1;
- LDL, low -density lipoprotein;
- Lpl, lipoprotein lipase;
- LXR, liver X Receptor;
- miRNA-cluster, mikroribonukleinsyre-gruppe;
- mRNA, budbringer-RNA;
- NCEP ATP III, National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III;
- NHANES, National Health and Nutrition Examination Survey;
- Nqo1, NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1;
- NRer, kjernereseptorer;
- Nrf2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2;
- PBB, polybromerte bifenyler;
- PBDE, polybrominert difenyl eter;
- PBT-stoffer, persistente, bioakkumulerende og toksiske stoffer;
- PCBer, polyklorerte bifenyler;
- PCDD, polyklorerte dibenso-p dioksiner;
- PFASer, per- og polyfluoreerte alkylstoffer

- PFBA, perfluorbutansyre;
- PFBS, perfluorbutansulfonat;
- PFCA, perfluoreerte karboksylsyrer;
- PFDA, perfluordekansyre;
- PFHxA, perfluorheksansyre;
- PFHxS, perfluorheksansulfonat;
- PFNA, perfluornonansyre;
- PFOA, perfluoroktansyre;
- PFOS, perfluoroktansulfonat;
- PPer, persistente organiske miljøgifter;
- PPARs, peroxisome proliferator activated receptors;
- PPAR α , peroxisome proliferator-activated receptor-alpha;
- PPAR β , peroxisome proliferator-activated receptor-beta;
- PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor-gamma;
- Pten, phosphatase and tensin homologue;
- Pxr, pregnane X receptor;
- p-AKT, fosforylert protein kinase B;
- ROS, reaktive oksygen spesies;
- Scd1, stearoyl-CoA desaturase-1;
- Srebps, sterol regulatory element-binding proteins;
- Srebp1c, sterol and regulatory element binding protein-1c;
- Ucp1, uncoupling protein 1;
- Vldl, very-low-density lipoproteiner;
- vPvB-stoffer, veldig persistente og veldig bioakkumulerende stoffer.

Innledning

Økende fedme og diabetes type 2 i verdens befolkning og i Norge

Fra begynnelsen av 80-tallet og frem til i dag har prevalensen av fedme økt med mer enn 50%, overvekt og fedme er assosiert til flere dødsfall på verdensbasis enn undervekt, og globalt sett er det flere som er overvektig i forhold til undervektige. (1) Overvekt er ifølge Verdens helseorganisasjon (WHO) definert som body mass index (BMI) ≥ 25 , mens fedme defineres som BMI ≥ 30 . Globale estimat fra WHO tilsier at i 2014 hadde 13% av den voksne befolkningen fra 18 år og oppover i verden en BMI som tilsvarer fedme, mens 39% var overvektig. Overvekt og fedme er ikke bare et problem i høyinntektsland, men også i lav- og middelsinntektsland – og da spesielt i urbane områder. Det er også blitt en økende forekomst hos barn de siste tiårene. De siste 20 årene har prevalensen av fedme og overvekt hos barn under fem år nesten doblet seg i Afrika, og WHO har anslått prevalensen til 41 millioner barn globalt sett. (2) **Figur 1** viser hvordan forekomsten av BMI ≥ 25 har utviklet seg i løpet av de siste 40 årene, hos voksne personer i Norge (nederste linje) og i USA (øverste linje).



© World Health Organization 2017 | Source: Global Health Observatory (<http://www.who.int/gho/en/>)

Figur 1: Illustrasjon som viser prevalensen av BMI ≥ 25 (aldersstandardiserte estimat) i Norge (nederste linje) og i USA (øverste linje), blant menn og kvinner ≥ 18 år, i perioden 1975-2016. I 2016 var forekomsten på 58,3% i Norge og 67,9% i USA, mens den i 1974 var på henholdsvis 35,8% og 41%.

Kilde: http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/overweight/en/

Fedmeepidemien er sannsynligvis en kombinasjon av gener, livsstil og miljøfaktorer, der gener alene ikke kan være forklaringen – selv om de kan forklare en del av tilbøyeligheten for å utvikle fedme. (3)

Hovedgrunnen antar man er at for mye kalorier inntas i forhold til energiforbruket. Der noe av skylden kan legges på en matindustri som lager energirike matvarer som inneholder kombinasjoner av fett, sukker og salt

som er vanskelig å stå imot, og økt inaktivitet på grunn av endrete transportmuligheter og mer sittestillende jobber i forhold til tidligere. (1) I tillegg til at faktorer som økt urbanisering, (2) søvn deprivasjon og mer stabile hjemmetemperaturer også bidrar til fedmeutvikling. (3)

Diabetes type 2 utvikles gradvis over tid, og er en følge av at celler i de mange vev i kroppen blir resistent mot insulin, og at pankreas ikke produserer tilstrekkelig nok insulin. Når flere av kroppens celler ikke reagerer til insulin, vil leveren kompensere med økt glukoseproduksjon, som gir økt blodglukose, og det vil gi ytterligere økt behov for insulin. Når betacellene ikke makter å møte kroppens behov til insulin, utvikles redusert glukosetoleranse. Insulinresistent er en kombinasjon av genetikk, miljø, og livsstilsfaktorer, som røyk, overvekt, fysisk inaktivitet og kost. Diabetes type 2 er sterkt assosiert med overvekt, og opptrer ofte sammen med økte lipidnivåer i blodet og høyt blodtrykk – såkalt metabolsk syndrom. (1)

På verdensbasis har 8,5% av de over 18 år diabetes, og diabetes type 2 utgjør de fleste tilfellene i forhold til diabetes type 1. (4) Diabetes type 2 utgjør mer enn ni tiendedeler av diabetestilfellene. (5) Tidligere så man kun diabetes type 2 hos voksne, men de siste årene har det vært økt forekomst også hos barn. (4)

Definisjonskriterier for diabetes ifølge norske retningslinjer er:

- Glykohemoglobin (HbA1c) $\geq 6,5\%$, eller
- Fastende plasma-glukose $\geq 7,0$ millimol per liter (mmol/L), eller
- Plasma-glukose $\geq 11,1$ mmol/L to timer etter en oral glukosetoleransetest.

(6) Det er antatt at omkring 35% av dem ≥ 20 år er prediabetisk, en tilstand som er en risikofaktor for, og ofte progredierer til, diabetes type 2. (7) Høy risiko for å utvikle diabetes type 2, også kalt nedsatt glukosetoleranse, kan kjennetegnes av:

- HbA1c 6,0–6,4%
- Fastende plasma-glukosekonsentrasjon fra 6,1 til 6,9 mmol/L
- Plasma-glukosekonsentrasjon 7,8-11,0 mmol/L to timer etter en oral glukosetoleransetest

(6) Konsekvensene av diabetes og fedme byr på høye kostnader for samfunnet og kan i stor grad påvirke helsen til den enkelte. Jo høyere BMI, jo høyere risiko for sykdom. Overvekt og fedme er en stor risikofaktor for diabetes, kardiovaskulære sykdommer som slag og koronar hjertesykdom, osteoartritt og andre muskel-skjelett sykdommer, og enkelte kreftformer som brystkreft, prostatakreft og tarmkreft. (2) Samt metabolsk syndrom, lungekomplikasjoner, leversykdom, psykologiske/sosiale problemer, og effekter på reproduksjon. (3) Fedme hos barn gir økt risiko for fremtidig sykdom og fedme, men det kan også gi konsekvenser i barnealder, deriblant psykososiale problemer, insulinresistens, økt risiko for benbrudd og

tegn på kardiovaskulær sykdom. (2) Diabetes over tid kan gi svært uheldige effekter på blodårer, øyne, nyrer og nerver, som kan føre til neuropati, retinopati, nyresvikt, og økt risiko for hjerteinfarkt og slag.

Symptomene på diabetes type 2 er mindre tydelig enn for diabetes type 1, slik at mange går udiagnostisert i flere år, og komplikasjoner kan være tilstede når de får diagnosen. Høy blodglukose utgjorde 2,2 millioner dødsfall i 2012. (1, 4)

Metabolsk syndrom, også kalt insulinresistens syndrom eller syndrom x, er tilstedeværelsen av abdominal fedme, hyperglykemi, dyslipidemi (forhøyet low density lipoprotein (LDL) og redusert high density lipoprotein (HDL)) og hypertensjon. Dette er viktige risikofaktorer for både diabetes type 2 og/eller kardiovaskulær sykdom. Det finnes flere definisjoner av syndromet, deriblant fra WHO, den internasjonale diabetesføderasjonen og den amerikanske «The National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III)». Sistnevnte sine retningslinjer fra 2001 definerer syndromet ved tilstedeværelsen av tre eller flere av undernevnte punkter. (8)

- Midjeomkrets ≥ 102 centimeter (cm) for menn, eller ≥ 88 cm for kvinner
- Serum triglyserider $\geq 1,7$ mmol/L, eller behandling av forhøyet triglyserider
- Serum-HDL kolesterol < 1 mmol/L for menn, eller $< 1,3$ mmol/L for damer, eller behandling av lavt HDL kolesterol
- Blodtrykk $\geq 130/85$ millimeter kvikksølv (mmHg), eller behandling av forhøyet blodtrykk
- Fastende plasma glukose $\geq 5,6$ mmol/L, eller behandling av forhøyet blodglukose

(8) Forekomsten av metabolsk syndrom er økende. Hos deltagerne i det amerikanske «The Third National Health and Nutrition Examination Survey» (NHANES III) ble prevalensen fastslått til 22 % i en seksårsperiode fra 1988, når kriteriene over ble brukt. Prevalensen økte med økende alder. Data fra NHANES i en treårsperiode fra 1999, viste at forekomsten hadde økt til 34,5%. (8)

Kan det være andre bidragsyttere til epidemien av fedme, diabetes og relaterte metabolske sykdommer, enn de klassiske og kjente risikofaktorene? De siste tiårene har det blitt en drastisk økning i kjemikalier i miljøet vårt, og det er blitt et økende fokus på hvorvidt disse miljøskadelige kjemikalene kan spille en rolle. (5, 7, 9, 10)

Presentasjon av problemstillingen, og Bradford Hills kriterier for å vurdere kausalitet

Fordi dette er et dagsaktuelt og svært spennende tema, har problemstillingen for oppgaven blitt formulert som forskningsspørsmålet: «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter»? Hensikten med oppgaven er å sette fokus på miljøgifter og hvilke uheldige helseeffekter de

kan ha. Da miljøgifter er et vidt begrep, ble det valgt å konsentrere seg om gruppen kalt per- og polyfluorerte alkylstoffer (PFASer). Denne gruppen av miljøgifter er en av de såkalte «nye miljøgiftene», som er assosiert med ulike typer sykdom og uheldige helseeffekter på celler, dyr og mennesker. Kun to av de mange syntetiske PFAS-forbindelsene er foreløpig forbudt i Norge, og mange plasser i verden produseres alle PFASer fremdeles. (11) PFAS-gruppen inneholder flere subgrupper, og i denne oppgaven er det valgt å se på hele gruppen som en helhet. Allikevel er det naturlige å snakke om spesifikke PFASer underveis i oppgaven, og resultatene presenteres med type PFAS.

For å svare på problemstillingen er det gjennomført et litteratursøk for å finne frem til relevante epidemiologiske studier på mennesker og studier på dyr (*in vivo*) og celler (*in vitro*). Ønsket var å nærme meg et svar på problemstillingen ved å gjennomgå aktuelle artikler, og samtidig å ha Austin Bradford Hill sin liste med ni kriterier for kausalitet (årsakssammenheng) i bakhodet.

Hill mente at statistiske metoder kan gi signifikante p-verdier, men man skal ikke ta for gitt at det dermed er en sann assosiasjon mellom effekt og sykdom av den grunn. Lave p-verdier sier noe om sannsynligheten for en assosiasjon, men ikke om det faktisk er kausalitet. I 1969 lagde legen en liste med ni kriterier som han mente man bør ta i betraktning når man skal vurdere om det er en sann årsakssammenheng mellom effekt og sykdom, ni kriterier som kan hjelpe oss i å ta en avgjørelse om det er kausalitet mellom to variabler: (12)

1. Assosiasjonens styrke: Antatte årsaken må være signifikant tilstede hos de eksponerte i forhold til de ueksponerte, slik som at røyking er sterkt assosiert med lungekreft. Assosiasjoner som gir signifikante statistiske resultater kan være forårsaket av: 1) sann årsakssammenheng, 2) sjanse, 3) tilfeldig feil, eller 4) systematisk feil (som bias og konfundering).
2. Konsistens: Flere rapporterer å ha observert samme assosiasjon; på ulike studier, på forskjellige plasser og til ulike tider.
3. Spesifisitet: En årsak som er spesifikk for assosiasjonen, slik at forskjellen mellom to studiepopulasjoner ikke skjer hvis risikofaktor er borte. Men en risikofaktor kan være årsak til mer enn bare en årsakssammenheng; røyk kan gi både lungekreft og andre typer kreft, selv om det er en særlig sterk assosiasjon mellom røyk og lungekreft i forhold til andre krefttyper som røyk er assosiert med. Det kan være vanskelig å trekke konklusjoner om en årsakssammenheng hvis spesifisitet ikke eksisterer.
4. Tidsaspektet: Før sykdommen inntreffer, må risikofaktoren/eksponeringen være tilstede. Tversnittstudier måler eksponisjon og sykdom samtidig, slik at man ikke vet hva som kom først, mens kohortstudier kan måle risikofaktorer før sykdom oppstår. Ikke alltid er dette lett å påvise eller

forstå; gir en matvare en type sykdom, eller er det sykdommens tidligere faser som gjør at man spiser den ene matvaren?

5. Biologisk gradient: Mellom risikofaktor og sykdom er det et dose-respons-forhold, slik som at de som røyker mye, vil ha økt risiko for lungekreft i forhold til de som røyker mindre.
6. Biologisk plausibilitet: Basert på kunnskap om sykdommen per dags dato, så høres assosiasjonen sannsynlig ut, ved at det finnes biologiske troverdige forklaringer til det vi observerer. Hill mente at dette er et krav vi ikke kan kreve.
7. Koherens: Forklaringer til årsakssammenhengen mellom sykdom og risikofaktor bør ikke avvike fra den biologiske kunnskapen og historien som finnes om sykdommen fra før, slik som det for lungekreft er kjent at histologi av røykelunger vil vise forandringer i lungeepitelet. Det burde kunne forklares når det skjer en endring i sykdommens insidens over tid eller mellom populasjoner. Hill skriver: «Den økte forekomsten av lungekreft og røyk skjedde på samme tid, samtidig som det var en tydelig forskjell i forekomst av lungekreft mellom røykende menn og ikke-røykende damer».
8. Eksperiment: Eksperiment på dyr og celler, eller epidemiologiske studier med forebyggende tiltak, slik som å påvise redusert forekomst av lungekreft blant de som slutter å røyke i forhold til de som ikke slutter.
9. Analoge forhold: Å vise til annet som ligner, kan bidra til å forklare årsakssammenhenger. Man kan for eksempel forvente at andre legemidler kan gi uheldige effekter i svangerskapet, fordi det tidligere er vist at enkelte legemidler er skadelig å gi til gravide.

(12, 13)

Ved gjennomgang av litteratur som er relevant for problemstillingen, har jeg tatt stilling til om funnene i de ulike studiene er positive eller negative i forhold til problemstillingen. Slik som at økt kroppsvekt etter eksponering til PFASer på mus, er et positivt funn, mens redusert blodglukose vil være et negativt funn. I vurderingen av kausalitet vil særlig konsistens og dose-respons-avhengige resultat være viktig for cellestudiene og dyrestudiene. Dose-respons-avhengige funn vil være uthevet i rød skrift i resultattabellene, og det er laget en oppsummeringstabell for studier *in vivo* og *in vitro* som viser de mest konsistente funnene. Reproduserbarhet med ulike metoder, på ulike celler og med flere forsøk, taler for kausalitet, og resultattabellene for cellestudiene er laget på en slik måte at dette skal komme godt frem. Assosiasjonens styrke vil være særlig aktuelt for de epidemiologiske studiene, og egne tabeller presenterer resultatene fra dem. Innledningsvis før resultater, gis det informasjon om miljøgiftstatus i dag, om PFASer og om hormonforstyrrende stoffer.

Miljøgiftstatus i verden og i Norge

Vår levemåte og livsstil har forandret seg fra hva den en gang var, og vår hverdag inneholder nå kjemikalier fra vi står opp om morgenen til vi legger oss om kvelden, i større eller mindre grad. (14)

Kjemikalier kan være kjemiske forbindelser, stoffblandinger eller grunnstoffer, og de kan komme fra naturen eller bli dannet fra andre kjemikalier. (15) Heldigvis er mange av dem vi omgir oss med trygge, men det finnes unntak, deriblant unntaket kalt miljøgifter. Disse er farlige for miljøet og helsen vår. (14) Store norske leksikon definerer det slik: «Miljøgift er kjemiske forbindelser som enten har en kjent giftvirkning eller som mistenkes å gi forgiftningseffekter fordi de samles opp i næringskjeder på land eller i vann. Noen av dem brytes ikke ned i naturen (de er persistente)». (16) Miljøgifter betegnes også under navnene persistente, bioakkumulerende og toksiske stoffer (PBT-stoffer), og veldig persistente og veldig bioakkumulerende stoffer (vPvB-stoffer). (14)

En undergruppe av miljøgifter er tungmetaller, slik som bly og kvikksølv. Derimot er flere tungmetaller viktige som næringsstoffer (for eksempel jern) og blir først toksiske i store mengder. En annen undergruppe er de persistente organiske miljøgiftene (POPer). De har stor evne til å lagres i levende vesener (bioakkumulering), brytes i liten grad ned, har egenskaper som gjør at de kan spre seg over store areal, og kan på lang sikt gi uheldige helsemessige effekter i mennesker. (14) Flere miljøgifter kan også kategoriseres som hormonforstyrrende stoffer, og PFASer er en av flere miljøgifter som kan kategoriseres som både POP og hormonforstyrrende. (3) Man kan utsettes for direkte eksponering til POPer, men hovedkilden i dag er via forurenset mat, der omkring 95% er inntak via fett fra dyr og fisk. Siden 1990 tallet har POPer vært assosiert med fedme, økte nivåer av blodglukose, insulinresistens og diabetes. (10)

Siden slutten av 1800-tallet har det skjedd store forandringer i Norge når det gjelder miljøgifter. Industrialiseringen førte til store og lokale utslipp fra store rør og piper på fabrikker og industrianlegg. Den teknologiske utviklingen ga etter hvert mindre utslipp og redusert størrelse på utslippskildene. Det skulle allikevel vise seg at antall kilder til forurensning skulle bli langt flere, slik som innenfor transport og produkter vi forbruker. Økt utslipp bidrar til økt forurensning i miljøet vårt, og dette gir at det er økte mengder av farlige stoffer som kan måles i oss og i dyr. Ofte ser vi ikke at vi eksponeres og vi tenker ikke over det. Dette fordi de ofte usynlige miljøgiftene er i luften vi inhalerer, i støv som omgir oss, i ferskvannet som vi drikker og sjømaten vi spiser, samt i annen mat. (17)

Tidligere kunne hvert land ofte ordne opp i sine egne problemer med lokale utslipp fra piper og rør, men miljøutfordringer som verden står overfor i dag krever at land kommer sammen for å finne løsninger. Økt kunnskap har ført til at det er blitt strengere kontroll, tilsyn, miljøkrav og regler til avfallshåndtering, industri og produkter. Samt at flere miljøgifter er blitt forbudt. (17) På tyve år har utslipp av flere alvorlige

miljøgifter blitt redusert med 50% fra utgangspunktet, som gjelder for flere land inkludert Norge, slik som polyklorerte bifenyler (PCB), kvikksølv og bly. (14, 17) Det er derfor reduksjon i mange av de «gamle miljøgiftene», men «nye miljøgifter» gir nye problemer, slik som blant annet PFASer. (14)

Egenskapene til miljøgifter vil ha betydning for muligheten de har til å kunne spres fra et sted til et annet, slik som hvor lett stoffet lar seg fordampe, potensialet til å nedbrytes, og løseligheten i vann. I tillegg har forhold i naturen betydning, slik som at økt temperatur og forsuring fasiliterer spredningen. Via luft- og havstrømmer kan kjemikalier fraktes fra utslippsstedet til områder langt unna, ved at kjemikalet kan fordampe ved varme temperaturer og fraktes med luftstrømmer til kaldere områder hvor det kondenserer og legger seg på nye plasser. Jo lavere fordampingstemperatur til stoffet, jo lengre avstander kan kjemikalet fraktes, og Arktisk er et spesielt utsatt område for akkumulering av miljøgifter, fordi det er så lav temperatur at miljøstoffer som fraktes hit ikke fordamper igjen. (18)

Når kjemikalier i et område ikke brytes ned vil de bli værende på hav- eller jordoverflaten, og kan med tiden bli tatt opp i dyr og planter, spre seg til inneluft, og spre seg med støv og jord. I tillegg til å kunne sive ut til grunnvann, fjorder, elver og innsjøer. (14, 19) Når kjemikalier har lav mulighet til å løse seg i vann kan de i stedet feste seg til andre partikler i vannet, som med tiden vil kunne felle til bunnen (sedimentere). Levende vesener som holder til ved bunnen av sjøen kan dermed få i seg de farlige kjemikalene ved å spise dette bunnfallet. (18) Vesener som spiste bunnfallet kan bli spist opp av andre dyr, som igjen kan bli spist av større dyr. Dermed kan miljøgiftene finnes i større mengder i dyr øverst i næringskjeden i forhold til lengre ned, såkalt biomagnifisering. (14, 18) Nytt lag med bunnfall uten miljøgifter vil med tiden kunne komme og legge seg over det første, slik at det skjer en reduksjon i utslipp av miljøgiftene som ligger under. Allikevel kan kjemikalene svirre opp igjen etter flere år, for eksempel etter graving på havbunnen. (18)

Hva er de helsemessige konsekvensene av de miljøfarlige kjemikalene? Enkeltdoser kan gi akutte effekter som er midlertidige eller permanente. Det man derimot er særlig på vakt over, er at lave mengder over tid kan gi langtidseffekter som blant annet kan påvirke hormoner, reproduksjon, deoksyribonukleinsyre (DNA) og bidra til kreft. Hvor sårbar man er vil variere mellom ulike organismer og det vil variere innad hos samme organisme, og det er noe som vil variere fra stoff til stoff. Faktorer som er av betydning; er kombinasjonen av miljøgifter og mengden vi eksponeres for, samt hvordan man utsettes for dem og varigheten. Noe man har for lite kunnskap om er den såkalte «cocktail-effekten» eller «mikstureffekten»; at miljøgifter sammen over lengre tid kan virke skadelig på oss, selv om stoffene hver for seg under et visst nivå ikke regnes som farlig. Fettløselige miljøgifter og de som vanskelig lar seg bryte ned, vil kunne lagres i mennesker og dyr. Resultatet av dette kan være biomagnifisering og uheldige helseeffekter over tid. For fettløselige stoffer vil særlig utsatte organismer være de som har mye fettholdig vev, som blant annet sel og

hval i Arktisk. I tillegg kan morkake og morsmelk bidra til at helseskadelige kjemikalier formidles fra mor til barn. (14)

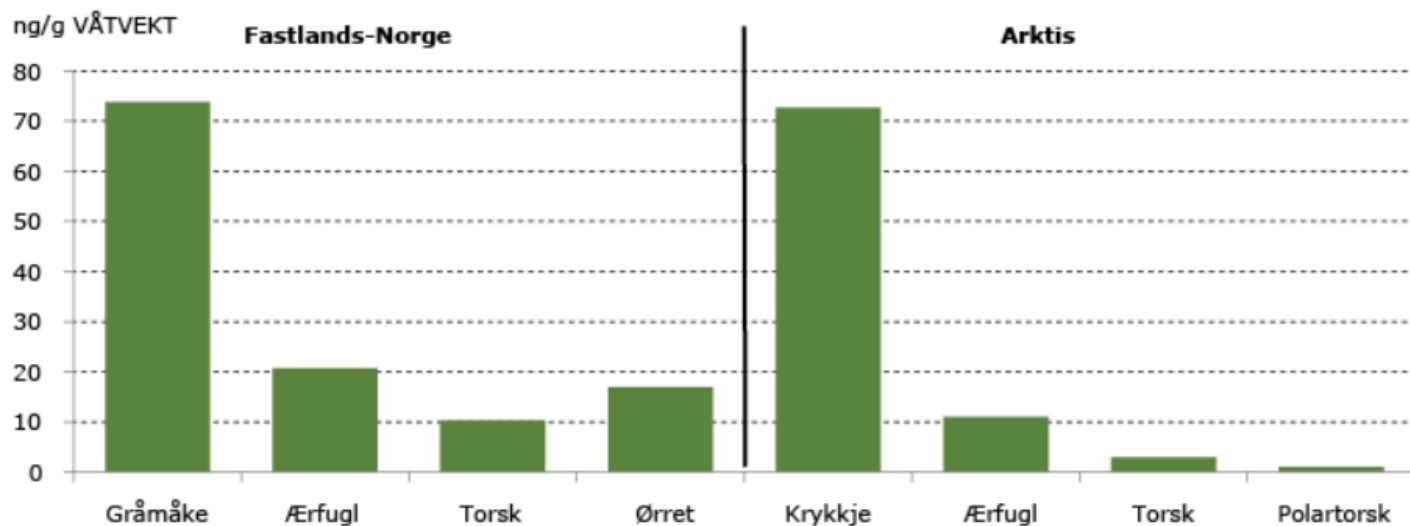
Per- og polyfluorerte alkylstoffer

PFASer er en stor gruppe av syntetiske kjemikalier som regnes som en av «de nye miljøgiftene», men har vært en del av industrien og i flere produkter i om lag 70 år. Stoffene er blant annet å finne i skismøring, matemballasje, slippbelegg i stekepanner, (11) rengjøringsmidler, papir, og impregnering og tekstiler som sko, allværsjakker og gulvtepper. Det at de er smuss-, fett-, og vannavvisende, samt at noen er flammehemmende, gjør dem ettertraktet. (20)

PFASer kan fraktes via hav- og luftstrømmer, og har blitt målt over store deler av jorden; både i mennesker, dyr, luft og i vann. (11, 20) Det at PFASer er målt på så mange ulike steder, er noe som stemmer dårlig overens med stoffenes mindre gode egenskaper til å kunne fraktes via luftstrømmer, da de har liten evne til å fordampe og har høy vannløselighet. Så det at stoffene er vist å være spredt rundt om i verden, kan komme av at enkelte PFASer som brukes i industri og produkter, nedbrytes til perfluoroktansulfonat (PFOS) og perfluoroktansyre (PFOA) (samt andre perfluorerte karboksylsyrer (PFCA)) som har større evne til å fordampe. (11, 21) PFOS og PFOA er de to mest omtalte innenfor PFASer. (11)

I Norge er PFASer påvist i blant annet torsk og gråmåke, i husstøv i vanlige norske hjem, og i menneskeblod. (11) **Figur 2** viser nivåer av miljøgiften i fisk og fugl på fastlands-Norge og i Arktis, fra 2013. Nost et al. (22) rapporterte om median PFOS-konsentrasjon hos nordnorske menn på 33 nanogram per milliliter (ng/mL) målt i 2007, og PFOA på 3.1 ng/mL. Mellom 1979 til 2001 viste studien at konsentrasjonene av PFOS og PFOA økte til mer enn det femdobbelte hos nordnorske menn, men ble betydelig redusert fra 2001 til 2007. Dette samsvarer med når stoffene i størst grad ble produsert globalt sett, og studien angir at det også er vist av flere andre studier at konsentrasjonene av PFOS og PFOA har blitt redusert siden starten på 2000-tallet. Derimot var det vist en økning og ingen reduksjon av andre PFASer i løpet av de 20-30 årene som denne studien tar for seg: Perfluornonansyre (PFNA) og perfluordekansyre (PFDA) viste økte konsentrasjoner mellom 1979 og 2007, og perfluorheksansulfonat (PFHxS) økte frem til 2001 uten å vise noen reduksjon frem til 2007. Poothong et al. (23) rapporterer at blant voksne bosatt i Oslo, så var median konsentrasjon av PFOS i 2013/2014 blitt redusert med 35% i forhold til hva en annen studie rapporterte i 2007/2008 hos norske voksne damer. Derimot viste PFOA ingen endring over disse årene, og PFHxS, PFDA og PFNA økte med henholdsvis 53%, 45% og 31%.

→ PFAS-er i fisk og fugl i 2013



KILDE: Norsk institutt for luftforskning, 2014 / miljøstatus.no

Figur 2: Figuren viser nivåer av per- og polyfluorerte alkylstoffer (PFASer) i fisk og fugl i Norge og i Arktis i 2013. Kilde: (11)

De som arbeider med PFASer eller er bosatt på steder hvor denne miljøgift-gruppen lages, har fått påvist høyere konsentrasjoner i blodet enn i befolkningen for øvrig, viser undersøkelser fra andre land. (11) Den PFASen som er vist å ha høyest konsentrasjon hos mennesker er PFOS. (20) Her til lands ble PFOS frem til 2007 brukt i brannskum, og fordi det ble brukt ved enkelte brannøvingsfelt, deriblant flyplasser, kan stoffet fortsatt i dag detekteres på disse stedene og fortsatt gi forurensning i miljøet. (20) Etter at PFOS ble forbudt å bruke, har andre PFASer i stedet blitt utnyttet til å lage brannskum, (11) og ofte kan disse PFASene brytes ned til PFOS og PFOA. (20) I tillegg til mat, er det sannsynlig at luft, drikkevann og støv er av betydning som eksponeringskilder for PFASer, siden PFASer ikke er fettløselig slik som andre POPer. For disse fettløselige POPene regner man med at mat og særlig fet fisk, utgjør den største eksponeringskilden. (20)

PFASer er en del av den store gruppen fluorholdige, organiske forbindelser. Det finnes svært mange PFASer, og i **Figur 3** presenteres en tredelt inndeling, med noen av de mest omtalte nevnt:

Perfluorerte sulfonsyrer:

- Perfluorheksansulfonat (PFHxS)
- Perfluorbutansulfonat (PFBS)
- Perfluoroktansulfonat (PFOS)

Fluortelomer alkoholer (FTOHer):

- 6:2 FTOH og 8:2 FTOH.

Perfluorerte karboksylsyrer (PFCA):

- Perfluoroktansyre (PFOA)
- C9-C20 PFCA (PFCAer som inneholder fra 9 til 20 karbonatomer).

Figur 3: Figuren viser en oversikt av en tredelt inndeling av per- og polyfluorerte alkylstoffer (PFASer), med noen av de mest omtalte stoffene nevnt. Kilde: (11)

PFASer er svært stabile stoffer siden de har sterke bindinger mellom fluor- og karbonatomene, (21) og de langkjedete PFASene kan akkumulere i levende vesener og i naturen, og dyr som befinner seg øverst i næringskjeden har dermed fått påvist høye nivåer av PFASer. (11) Siden stoffene er vannavstøtende og fettavstøtende opphopes de ikke i fettvev, som nevnt er ulikt andre POPer. (20) De vil i stedet akkumulere i organismer ved at de kan reagere med membranfosfolipider som har høy affinitet for ladete substanser, og kan binde proteiner i serum (som albumin), fettsyrebindende proteiner i lever, og organiske anion transportere. Dette gir gjentatt enterohepatisk sirkulasjon av stoffene og reabsorpsjon i nyretubuli. I studier med døde mennesker og dyr viser det seg å være høyest verdi av PFASer i lever, nyrer og lunger. (24)

De langkjedete PFASene inkluderer blant annet PFHxS, PFOS, PFOA og C9-C20 PFCA, mens kortkjedete PFASer har færre karbonatomer i den fluorerte alkylkjeden, slik som perfluorbutansulfonat (PFBS). Selv om man vet mindre om disse kortkjedete PFASene, er det den siste tiden blitt økt bruk av disse fremfor de langkjedete som man har mest kunnskap om. (11) Blant annet har perfluorheksansyre (PFHxA) (C6) og perfluorbutansyre (PFBA) (C4) erstattet PFOA. Selv om PFASer med lengre karbonkjede har større evne til å akkumulere i kroppen, ved at de utskilles saktere, og at PFASer med lengre karbonkjede har vist størst toksisitet i studier, så vil økt bruk av disse kortkjedete kunne gi uvisse og potensielt alvorlige konsekvenser i fremtiden. (25) De kortkjedete PFASene brytes også sakte ned, (11) selv om de langkjedete har lengre halveringstid enn de kortkjedete. Halveringstiden i mennesker er beregnet til omtrent 4,8 år for PFOS og 3,5 år for PFOA. (24)

Helseeffektene er ukjent for de fleste av disse stoffene. (20) Men det er blant annet påvist en assosiasjon mellom eksposisjon for PFOA og redusert fødselsvekt hos mennesker, (26) ulcerøs kolitt, (27)

tyroideasykdommer, (28) og det er assosiasjon mellom PFOA og PFOS og forhøyet serum-kolesterol. (29) Studier på dyr har vist at PFOS, PFOA og C9-PFCA kan bidra til kreft, uheldige effekter på foster og gi leverskade. Disse PFASene er fareklassifisert. (11)

PFASer reguleres i hovedsak internasjonalt. For land som er medlem av Den europeiske union (EU), vil det fra 2020 ikke lenger være lov å bruke PFOA og PFASer som nedbrytes til PFOA. Samt at i svært mange land er PFOS, og PFASer som kan nedbrytes til PFOS, svært godt regulert. Innad i Norge er det i tillegg enkelte forbud, og flere av de langkjedete PFASene står på prioritetslisten til myndighetene og målet er å få null utslipp av disse før 2020. Mange utslippskilder og mange ulike PFASer, gjør at man ikke vet hvor mye utslipp det er, men i motsetning til mange andre land produseres stoffene ikke her. PFOA er strengt regulert innad i landet, og man tror at PFOS ikke er i bruk lengre, etter at brannskum med denne miljøgiften ble forbudt for ti år siden. I tillegg foregår det oppryddingsarbeid der hvor PFAS-innholdig brannskum har gitt forurensning. (11)

Hormonforstyrrende stoffer

Stoffer som kan etterligne naturlige hormoner, eller forstyrre produksjonen, metabolismen, eliminasjonen og frigjøringen av hormoner, kalles hormonforstyrrende stoffer. Retningen utviklingen i jordbruk og industri har tatt de siste tiårene, har bidratt til en stor økning i kjemikalier. På samme tid har fedme og overvekt, og assosierte metabolske sykdommer, økt i befolkningen. Derfor er flere miljøgifter mistenkt å være hormonforstyrrende stoffer, såkalte «endocrine-disrupting chemicals» (EDCer). EDCer var tidligere antatt å kunne påvirke reproduksjon og utvikling i hovedsak, men har nå gradvis fått mer og mer fokus som nettopp metabolsk forstyrrende. (3)

Hvordan kan hormonforstyrrende miljøgifter bidra til fedme, diabetes og metabolsk syndrom? Kjemikalene antas å gi effekter på akkumulering av lipider, adipogenesen og differensieringen til adipocytter, eller bidra til dyslipidemi og økte leptinnivåer, påvirke kroppsvekten og gi endringer i gener involvert i lipidmetabolismen. Kjemikalier er antatt å kunne bidra til diabetes ved å gi endringer i glukosehomeostasen, øke insulinresistens og gi glukoseintoleranse. (30) Særlig er pankreas sine insulinproduserende betaceller et sårbart mål for miljøgifter, og EDCer kan påvirke cellenes funksjon, proliferasjon og overlevelse. (5) EDCer kan trolig virke via flere mekanismer; de kan forstyrre syntesen til hormoner, eller de kan påvirke hormoner sine spesifikke reseptorer (aktivere eller deaktivere reseptorene). I tillegg til å kunne forstyrre den lokale kontrollen av aktive til inaktive hormoner, ved å aktivere eller hemme hormoner sine metaboliserende enzymer. (30)

Hormoner fungerer i hovedsak ved å reagere med membranreseptorer som er lokalisert på utsiden av celler, og med kjernereseptorer som befinner seg på innsiden i cytoplasmaet eller i selve kjernen. At miljøgifter kan

reagere med kjernereseptorene er noe både eksperimenter på dyr og epidemiologiske studier støtter opp om. Kjernereseptorer, såkalte «nuclear receptors» (NRer), er en stor gruppe av ulike reseptorer, og når de aktiveres påvirker de ekspresjon av gener. Østrogen binder til sine NRer kalt østrogenreseptor-alfa og -beta. Hormonet har flere viktige funksjoner i tillegg til reproduksjon, deriblant differensiering av adipocytter, glykolyse og glukosetransport. Eksponering til miljøgiften bisphenol A (BPA) *in vivo*, er foreslått å gi økt insulinfrigjøring ved at kjemikalet virker via østrogenreseptor-alfa i pankreas. (3) Andre NRer som miljøgifter er vist å kunne påvirke er steroidhormonreseptorer, retinoic X receptorers og glukokortikoidreseptorer, (31) i tillegg til androgenreseptorer og tyreoidhormonreseptorer. (30)

Enkelte NRer fungerer som «ryddehjelp», ved at de bidrar til å fjerne fremmede og/eller farlige stoffer fra kroppen; såkalte xenobiotika. NRer som har en slik jobb i kroppen kalles xenosensorer, og mange hører til i leveren. Fremmede og farlige stoffer kan komme utenifra, som legemidler eller eksogene toksiner, eller det kan være stoffer som kroppen har dannet selv, som metabolske produkter. En type xenosensor er kalt pregnane X receptor (PXR) (steroid and xenobiotic receptor, SXR, i mennesker), og er særlig viktig for å øke genuttrykk av enzymer til degradering av fremmede stoffer. En annen viktig «ryddehjelp» er constitutive androstane receptor (CAR). Begge disse to reseptorene er også assosiert med metabolisme til fettsyrer, lipider og glukose. Aktivering av PXR er assosiert med å kunne gi leversteatose *in vitro* og *in vivo*, mens hepatosteatoze og diabetes er vist å bedres etter aktivering av CAR, og både CAR og PXR er assosierte med å ha hemmende effekt på glukoneogenesen. Miljøgifter er vist å kunne påvirke reseptorene; enkelte ftalater er rapportert å aktivere begge reseptorene, og PFOS og PFOA er vist å kunne aktiverer CAR. (3)

En annen viktig NR er peroxisome proliferator activated receptors (PPARs), og dens tre isotyper. Generelt vil transkripsjonsfaktorene aktivere gener viktig for lipidmetabolisme, celledifferensiering og energihomeostase. (31) PPAR-alpha (PPAR α) er særlig å finne i leveren, og andre vev hvor det foregår mye nedbryting av fettsyrer, (3) da aktivering av PPAR α gir økt ekspresjon av gener relatert til fettsyreoksidering, (32) samt at den er viktig for begrensnig av inflammasjon. (3) I tillegg er reseptoren viktig for kontroll av metabolisme til lipoproteiner, ved at den blant annet kan føre til økt opptak av LDL i leveren, redusert produksjon og økt omdannelse av very low-density lipoproteins (VLDL), og frigjøring av fettsyrer fra VLDL og kylomikroner i perifert vev. Fibrater er en legemiddelgruppe som brukes terapeutisk mot hyperlipidemi hos mennesker, og den hypolipidemiske effekten skjer nettopp via aktivering av PPAR α . (33) Aktivering av reseptoren i mus og rotter kan gi hepatomegali og hyperplasi av hepatocytter, og fibrater som gis mus er vist å bedre hepatosteatoze. (32) Celledifferensiering og celleoverlevelse er oppgavene til den andre isotypen kalt PPAR-beta (PPAR β), samt at den har flere lignende funksjoner som PPAR α . PPAR-gamma (PPAR γ) deltar i inflammasjonsresponser, kontroll av insulinsensitivitet, lipidlagring og

adipogenese. Flere miljøgifter er vist å aktivere PPARs, slik som enkelte pesticider, ftalater og PFASer. (3) Casals-Casas et al. (3) rapporterer at mange av effektene som er sett etter eksponering til flere PFASer kommer på grunn av aktivering til PPAR α .

Det hele kompliseres da det ikke bare er direkte effekter av disse NRer, men også indirekte effekter via intracellulær signalering. Slik som at andre signaleringsveier og NRer kan påvirkes når enkelte NRer aktiveres, i tillegg til at ulike EDCer kan reagere med en eller flere forskjellige NRer. (3)

Det har særlig vært et økende fokus for at påvirkning av barnet under svangerskapet og tidlig i livet kan få uheldige helseeffekter senere i livet. Lav og høy kroppsvekt hos nyfødte er assosiert med økt risiko for å utvikle fedme som voksen, og studier *in vivo* med prenatal eksponering til miljøgifter har vist påvirket fødselsvekt og metabolske forstyrrelser som voksen. Mange vev har en viktig rolle i programmeringen av energihomeostasen under utvikling, deriblant adipocytter og hypothalamus. EDCer kan muligens påvirke ekspresjon av gener involvert i regulering av appetitt, ved å interagere med neuroner. (31) Det er også foreslått at prenatal eksponering til EDCer kan påvirke gener via epigenetiske mekanismer, som kan resultere i uheldige helseeffekter senere i livet, (3) slik som epigenetiske modifikasjoner i gener som har betydning for fedme. (30)

Metode og materiale

Denne oppgaven er et litteraturstudium, og for å komme frem til litteratur som var relevant, ble det gjennomført et søk i PubMed-databasen. Resultatene i denne litteraturstudien er kun basert på relevante artikler som ble sortert ut fra litteratursøket. For innledning og diskusjon ble det brukt flere artikler fra litteratursøket, i tillegg til at veileder bidro med relevante artikler, og det ble hentet artikler fra referanselister. Aktuelle nettsider og fagbøker er også en del av referanselisten. Flere artikler har blitt lest og flere artikler har vært viktige for oppgaven, og vedlagt ligger artikkelsammendrag (kunnskapsevalueringer) av tre nøkkelartikler på referanselisten, og av tre epidemiologiske studier i mennesker som er en del av resultatene.

Litteratursøket

Litteratursøket ble bygd opp på følgende måte: «Eksponeringer» ble knyttet sammen med ulike kombinasjoner av «følger», som er illustrert i **Figur 4**. «OR» ble knyttet mellom de ulike «eksponeringene» og mellom de ulike «følgene», mens «AND» knyttet dem sammen. Det ble gjort søk uten MeSH-termer. For å komme frem til relevante eksponeringer og følger, ble det gjennomgått flere artikler og oversiktsartikler i forkant av søket.

Perfluoroalkyl substances OR polyfluoroalkyls substances OR per and polyfluoroalkyls substances
OR pfas OR perfluorinated compounds OR PFC OR perfluoroalkyl acids OR pfaas OR pfos OR
perfluorooctane sulfonic acid OR C8HF17O3S OR pfoa OR perfluorooctanoic acid OR
C8HF15O2

AND

Obesity OR diabetes OR diabetes type 2 OR metabolic syndrome OR blood glucose OR
hyperglycemia OR glucose tolerance OR impaired glucose tolerance OR impaired fasting glucose
OR insulin resistance OR hyperinsulinism OR beta cell function OR adipogenesis OR dyslipidemia
OR lipid accumulation OR bodyweight

Figur 4: Figuren viser hvordan søket på PubMed ble bygd opp.

Litteratursøket ble gjort 8.august 2017, klokken 18.50, og ga 544 resultater. Artikkene ble så sortert ut på språk (norsk og engelsk) og om de var utgitt i løpet av de siste fem årene, som ga henholdsvis 527 og 230 resultater. De 230 artikkene ble nedlastet til et EndNote-bibliotek. Artikler ble så sortert ut på tittel og abstrakt. Resterende artikler sorteres i fem ulike mapper i EndNote etter hvert som de gjennomgås: 1) dyrestudier, 2) cellestudier, 3) studier på både dyr og celler, 4) epidemiologiske studier, og 5) mappen for ikke-relevante artikler. Inklusjonskriteriet til artikler som ikke kom i ikke-relevant-mappen, var at de måtte omhandle mekanismer som kan bidra til diabetes eller metabolsk syndrom, og være knyttet til miljøgifter som en mulig årsak, slik at de var relevant for problemstillingen. På bakgrunn av kun å ha lest abstrakt, var det enkelte ganger vanskelig å vurdere om artikler var relevant, derfor brukte jeg også fulltekst, og flere artikler ble fort sortert ut som ikke-relevant når jeg startet å lese dem. Mellom 8.august 2017 og til og med 2.april 2018, har det kommet oppdateringer om søket på e-post. I løpet av høsten og vinteren har de aktuelle og nye artikkene blitt sortert ut, og lagt i en av mappene i EndNote.

Som nevnt over, er resultatene i denne oppgaven kun hentet fra litteratursøket. Det er totalt 44 studier utgitt mellom 2013-2018 som er inkludert i resultatene: 15 dyrestudier, 12 cellestudier, 7 studier som både er gjort *in vitro* og *in vivo*, og 10 epidemiologiske studier på mennesker. De epidemiologiske studiene som er inkludert er utgitt i løpet av de tre siste årene.

Bruk av engelske ord

For å kunne svare på problemstillingen på en best mulig og korrekt måte, har flere engelske ord, forblitt på engelsk. Dette gjelder særlig forskjellige kjerne reseptorer, proteiner, gen og signaleringsveier relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen. I tillegg vil enkelte PFASer oppgis med det engelske navnet, da det har vært vanskelig å finne norske ord for de PFASene det gjelder. Engelske navn vil enkelte andre typer miljøgifter også omtales med. Navn på metoder til eksperiment som er gjort på celler, og navn på de ulike celletypene, vil presenteres med engelske navn i tabellene for cellestudiene.

Om forkortelsene

I tabellene som presenterer resultatene fra dyre- og cellestudiene, vil navn på diverse gen, proteiner, kjernereseptorer og signaleringsveier, i hovedsak oppgis med det fulle navnet og forkortelsen i parentes bak, for hver ny rad i hver tabell. Forkortelsene til navnene er tatt med i parentes bak, da det kan være lettere å gjenkjenne navnene med forkortelsene heller enn det fulle navnet alene, og fordi noen begrep er mer kjent på forkortelsen enn det fulle navnet. For forkortelser som ikke står forklart i tabellene, vil det være ordforklaringer under hver tabell. For forkortelser som er brukt i selve oppgaveteksten, henvises det til ordforklaringer fremst i oppgaven.

Enkelte protein/gen har flere navn, og for enkelte av disse har ulike celle- og dyrestudier omtalt de med ulike navn. For de proteinene/genene dette gjelder, er det valgt et navn for å unngå forvirring. Dette gjelder særlig adipocyte protein 2/fatty acid binding protein 4 (AP2/FABP4) og cluster of differentiation 36/ fatty acid translocase (CD-36/FAS). I disse to tilfellene ble det valgt å bruke FABP4 og FAS.

Hovedregelen for hvordan gener og proteiner oppgis i oppgaveteksten og i tabellene 1.1-1.7 og 2.1-2.10, er at symbolene (forkortelsene) for gen vil markeres med kursiv, mens symbolene for proteiner vil være uten kursiv. Denne oppgaven omhandler gener og proteiner fra celler/ dyr som tilhører ulike arter (mus, rotter, mennesker og sebrafisk), og for de ulike artene vil det være egne regler i tillegg til hovedregelen for hvordan symbolene til gener og proteiner oppgis. I oppgaveteksten har det derfor vært vanskelig å følge reglene hele tiden, men det er forsøkt å oppgi symbolene til gener og proteiner på en best mulig måte. For tabell 3 som oppsummerer funnene fra dyre- og cellestudiene, er det valgt å presentere alle funnene uten kursiv og i små bokstaver, uavhengig om det er snakk om protein eller gen, og uavhengig av hvilken art det snakkes om.

Resultater til forskningsspørsmålet: Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter?

For å svare på problemstillingen «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter», ble flere studier på dyr og celler eksponert til PFASer gjennomgått. Positive og negative funn fra dem presenteres i henholdsvis tabeller 1.1-1.7 og 2.1 - 2.10. Et positivt funn vil tale for problemstillingen, slik som økt blodglukose i mus eksponert til PFAS. Et negativt funn vil tale imot problemstillingen, slik som økt insulinstimulert glukoseopptak i celler eksponert til PFAS. En oppsummering av positive funn som er mest konsistente mellom celle- og dyrestudiene presenteres i tabell 3. Tabeller 4.1 - 4.3 viser positive og negative funn fra de inkluderte epidemiologiske studiene som var relevante for problemstillingen. **Figur 5** gir en oversikt over tabellene som ligger vedlagt bakerst i oppgaven.

<p>Tabeller 1: Dyrestudier</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tabell 1.1: Mus eksponert til kun en dose av PFOA • Tabell 1.2: Mus eksponert til flere doser av PFOA • Tabell 1.3: Mus eksponert til PFOS • Tabell 1.4: Studier på mus som bruker to eller flere ulike PFASer • Tabell 1.5: Eksponerte rotter og katter • Tabell 1.6: Mus eksponert under svangerskap • Tabell 1.7: Mus og rotter eksponert under svangerskap og under ammeperioden 	<p>Tabeller 2: Cellestudiene</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tabell 2.1: Aktivitet til enzymene glycerol-3-phosphate dehydrogenase og kolin kinase • Tabell 2.2: Effekt på reaktive oksygen spesies og en adipogenese-relatert signaleringsvei • Tabell 2.3: Effekt på celledørrelse og celleantall • Tabell 2.4: Effekt på betaoksidering og termogenese • Tabell 2.5: Effekt på metylering • Tabell 2.6: Effekt på insulinstimulert glukoseopptak og pankreasmorfologi • Tabell 2.7: Effekt på ekspresjon til proteiner relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen • Tabell 2.8: Effekt på innhold av lipider, triglyserider og total kolesterol i cellene • Tabell 2.9: Effekt på kjernereseptorer • Tabell 2.10: Effekt på ekspresjon til gener relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen
<p>Tabell 3: Oppsummeringstabell av de mest konsistente funnene fra celle- og dyrestudiene</p>	<p>Tabeller 4: Epidemiologiske studier</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tabell 4.1: Tversnittstudier • Tabell 4.2: Kasus-kontrollstudier • Tabell 4.3: Prospektive kohortstudier

Figur 5: Oversikt over tabellene som presenterer resultatene.

Dyrestudier

Totalt var det 22 studier hvorav 18 gjennomført på mus, 2 på rotter, 1 på diabetiske rotter og 1 tverrsnitt-designet studie på husholdningskatter. Fem av disse undersøker effekt av prenatal-eksponering (med eller uten ammeperiode), og fem tar for seg om høyfettdiett i forhold til regulærdiett kan bedre eller forverre effektene etter eksponering til PFASer. Tabeller 1.1-1.7 viser resultatene fra studiene.

Utenom de prenatale studiene, er det kun en studie som rapporterer om redusert glukosetoleranse og økt insulinresistens etter eksponering til PFOA i 21 dager, dog doseavhengige serumverdier av insulin og glukose, og doseavhengige funn for protein- og genekspresjon relatert til glukosemetabolismen i hvitt fettvev. (34) Økt kroppsvekt og positiv assosiasjon til fedme er funnet i to studier; hvorav Wang et al. (35) rapporterte om økt kroppsvekt hos mus etter 14 dagers eksponering til PFOS, og Bost et al. (24) rapporterte om økt risiko for høyere kroppsvekt hos husholdningskatter med odds ratio lik 5,3. Hepatomegali kan være et kjennetegn for fettlever (hepatosteatose) som er assosiert med metabolsk syndrom og diabetes type 2, og kan gjenkjennes av økt levervekt og hepatocytthypertrofi. (36) Økt levervekt og/eller hepatocytthypertrofi viste ti studier etter at mus var eksponert til ulike PFASer (PFOA, PFNA, PFDA, PFHxS og PFOS), (32, 35,

37-43) og hos rotter etter eksponering til PFOS. (44) Wang et al. (35) var eneste studien som meldte om en doseavhengig økning i levervekt. Hepatomegali kan være et kjennetegn for fettlever, men økt levervolum etter eksponering til PFASer kan også være forårsaket av vevsødem på grunn av toksisitet av disse stoffene. Akkumulering av fett i leveren er også assosiert med hepatosteatose, (36) og flere studier rapporterte om økt lipidinnhold etter at mus var eksponert til PFASer (PFOA, PFNA, PFHxS og PFOS), (32, 35, 38, 41, 45) og etter eksponering for PFOS hos rotter. (44) Det var også påvist økt triglyseridnivåer i lever til mus etter eksponering til flere PFASer (PFOA, PFNA, PFHxS), (32, 41) og for rotter etter eksponering til PFOS og PFNA. (44, 46) I tillegg til at økt kolesterolnivåer i lever var observert for rotter etter eksponering til PFNA. (46) Wang et al. (38) rapporterte om doseavhengig økt lipidnivåer, og Fang et al. (46) viste til doseavhengig økning i triglyseridnivåer og kolesterolnivåer i leveren til rotter.

Det var også flere av de ikke-prenatale studiene som rapporterte om serumnivåer som er lignende det man kan se ved metabolsk syndrom og hepatosteatose; (36) økning i alanin aminotransferase (ALAT) og/eller aspartat aminotransferase (ASAT) etter eksponering til PFOA for mus, (37, 40-42) og for rotter etter PFOS-eksponering. (44) I tillegg ble det rapportert om redusert serumverdi av HDL hos mus etter PFOA eller PFOS eksponering. (35, 38, 42) Et flertall av studiene påviste positive funn for ekspresjon av proteiner og/eller gener relatert til karbohydratmetabolismen i lever, (40, 41, 45) eller i hvitt fettvev. (34, 47) Samt at flere viste endret ekspresjon for proteiner eller gener relatert til fettmetabolismen i hvitt fettvev, (47) og lever. (32, 37-39, 41-45, 48)

Blant de ikke-prenatale studiene er det tre som taler imot diabetes type 2 med redusert blodglukose og nedregulering av glukosemetabolitter (deriblant glukose, fruktose, galaktose og ribose) i leveren etter eksponering til PFOA og PFOS hos mus. (35, 38, 40) Redusert kroppsvekt etter eksponering til PFOA og PFOS i mus er påvist for fire studier, hvorav to rapporterte om en doseavhengig eller tidsavhengig reduksjon. (34, 37, 38, 49) Det ble også rapportert å skje hos rotter etter eksponering til PFOS. (44) I tillegg er det rapportert om redusert vekt av hvitt eller/og brunt fettvev hos mus i flere studier. (35, 37, 38, 40, 49) Redusert triglyseridnivå og doseavhengig redusert totalkolesterolnivå i lever er rapportert hos mus etter eksponering til PFOA, (48) mens upåvirket innhold av lipider, triglyserider og kolesterol i lever hos rotter etter PFOS-eksponering. (44) I kontrast med dyslipidemi og økte transaminaser ved metabolsk syndrom og hepatosteatose/hepatitt, var flere serumverdier heller redusert i flere studier etter eksponering til PFOA eller PFOS hos rotter eller mus: triglyserider, (35, 38, 40, 41, 44) total kolesterol, (35, 38, 40, 44) og LDL. (38, 40, 44) I tillegg var det påvist uendret total-bilirubin i plasma etter eksponering til PFOA. (37)

Wan et al. (50) og Lv et al. (51) rapporterte om at mus og rotter viste tegn på prediabetes/diabetes i voksen alder etter prenatal eksponering. Redusert fødselsvekt er en risikofaktor for metabolsk sykdom senere i livet, inkludert diabetes type 2, og PFOS-eksponering prenatalt hos rotter ga redusert fødselsvekt, (51) samt mus

eksponert til PFOA viste redusert vekt de første leveuker. (52) Førstnevnte var en av de to studiene som viste tegn på prediabetes i voksen alder, i tillegg til at det ble rapportert om fettakkumulering i leveren. Økt levervekt var påvist hos mus i voksen alder etter prenatal eksponering til enten PFOA eller PFOS. (50, 52, 53) Gener relatert til lipid og glukosemetabolismen i leveren var påvirket i tre studier. (50, 51, 54) Van Esterik et al. (53) foreslår metabolsk programmering som årsak til endringer som ble sett i voksen alder. På den annen side, prenatal eksponering viste å gi reduksjon i kroppsvekt fra tidlig barndom til voksen alder, (53) og upåvirket kroppsvekt i voksen alder. (50, 52) Serumverdier av kolesterol og triglyserider viste seg å ikke være økt som voksen, (51) og det var heller påvist doseavhengig reduksjon i serumverdier av triglyserider og kolesterol. (53)

Blant både prenatale og ikke-prenatale studier, var det flere som rapporterte om positivt funn for påvirkning av kjernereseptorer; økt genekspressjon i lever av PPAR α (42, 48) og PPAR γ , (38, 48) samt økt genekspressjon av PPAR γ i hvitt fettvev. (47) I leveren var det også påvist aktivering av signaleringsveien liver X receptor (LXR), (54) redusert genekspressjon av hepatocyte nuclear factor 4 alpha (HNF4 α), (48) og økt ekspresjon av målgener («target genes») til sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs). (42, 48)

Fem studier undersøkte effektene av eksponering med høyfettdiett i forhold til regulærdiett, hvorav to var med prenatal eksponering. Wang et al. (35) forklarer at hypotesen bak høyfettdietten var at en diett rik på fett kanskje kunne bedre utfallet etter PFOS-eksponering i forhold til PFOS-eksponering og regulærdiett. Dette fordi PFOS er strukturelt lik fettsyrer, og en høyfettdiett muligens kan mobilisere mer lipider som delvis kan «utkonkurrere» PFOS. Studien rapporterte derimot om at eksponering til PFOS i voksne mus ga like effekter på glukose- og lipidmetabolismen uavhengig av type diett. Wang et al. (38) rapporterte om at høyfettdiett ikke gir reduserte triglyserider, LDL og kolesterol i serum slik som hos mus på regulærdiett etter PFOA-eksponering. Tan et al. (37) foreslår at høyfettdiett er assosiert med fettlever og PFOA er assosiert med leverskade, så studien ønsket å undersøke om det kunne bli en ytterligere uheldig effekt av dem sammen. Noe de også konkluderer med, siden PFOA-eksponerte mus på høyfettdiett fikk ytterligere økt levervekt og serumnivå av ALAT i forhold til mus på regulærdietten, som viste en mindre økning i disse. Forverrete effekter av høyfettdietten på levervekt og serumverdier av insulin og glukose rapporteres for den ene prenatale studien, (50) mens van Esterik et al. (53) rapporterte om at oppstart med høyfettdiett i voksen alder etter prenatal eksponering ga ytterligere lavere vekt hos mus.

Cellestudier

Syv av de totalt 19 studiene som resultatene presentert i tabeller 2.1 -2.10 er basert på, er gjort både *in vitro* og *in vivo*. (32, 42-45, 47, 48) Resultatene omfatter litt i overkant av 10 ulike celletyper, og slik som for dyrestudiene, er PFOA og PFOS de mest dominante eksponeringene. Elleve studier har gjennomført

eksponering før eller under differensieringen av cellene, og målt effekter underveis i differensierende celler eller i ferdigdifferensierte celler.

Økt lipidnivå er det mest konsistente positive funnet, påvist for hele ni ulike eksperimenter fordelt på åtte ulike studier. Det er påvist på seks ulike celletyper, ved bruk av tre ulike metoder, og med unntak av to studier er det gjennomført tre eller flere eksperimenter per studie, og resultatet er blitt observert for fem ulike PFASer. Det nest mest konsistente funnet er økt genekspresjon, proteinekspresjon og/eller aktivisering av PPAR γ . Det er også påvist ved ulike metoder, på flere forskjellige celletyper, i ulike studier hvor de fleste har gjort eksperimentene tre eller flere ganger, ved ulike doser, og for fem ulike PFASer. Deretter er det flere studier som viser til positive funn med økt triglyseridinnhold i celler, økt genekspresjon eller aktivitet til PPAR α , samt økt genekspresjon til to protein viktig for differensiering av adipocytter (47); fatty acid binding protein 4 (FABP4) og CCAAT/enhancer binding protein α (Cebp α).

For de fleste dose-avhengige funnene er det bare en studie per positive doseavhengige funn. De mest konsistente effektene med økt lipid- og økt triglyseridinnhold i celler, samt økt genekspresjon til PPAR γ , har derimot to eller flere doseavhengige effekter. Motstridende er det at tre ulike eksperimenter viser til redusert lipidinnhold i celler, hvorav et er doseavhengig. Det samme for insulinstimulert glukoseopptak, som viser å være doseavhengig redusert for humane hepatocytter, (55) men doseavhengig økt insulinsensitivitet for museadipocytter. (47)

Enkelte funn kan virke mindre relevant for problemstillingen, når de er fremstilt i tabellen uten en videre forklaring, slik som om PFASer har effekt på diverse gener og proteiner, samt fettsyreoksidering, reaktive oksygen spesies (ROS) eller endoplasmatisk retikulum (ER)-stress. Enkelte funn er tatt med da studiene selv har omtalt ulike hypoteser om mekanismer bak toksiske effekter av PFASer, og det dermed er relevant for problemstillingen å inkludere funnene. Enkelte funn vil nevnes under diskusjon, med tanke på Hill sitt kriterie om plausible forklaringer.

Oppsummering av de mest konsistente funnene mellom celle- og dyrestudiene

Tabell 3 presenterer en oppsummering av positive funn som ble rapportert både *in vitro*- og *in vivo*, og er laget med utgangspunkt i tabeller 1.1-1.7 og 2.1-2.10. Positive funn er funn som taler for problemstillingen, slik som for eksempel økt ekspresjon av et gen viktig for adipogenese etter eksponering til PFAS. Den viser hvilke funn og antall funn som er konsistente på tvers av om dyr eller celler eksponeres. For enkelte cellestudier er samme eksperiment gjort på ulike cellelinjer, og for enkelte studier vil det være positivt funn *in vitro* og *in vivo*. Derfor vil totalt antall referanser i siste kolonne i tabellen ikke nødvendigvis stemme overens med antall oppregulerte piler i samme rad.

Det mest konsistente positive funnet, er økt lipidinnhold i celler/vev etter eksponering, da 14 ulike eksperimenter, fra 13 ulike studier, rapporterer om dette. Fem av disse eksperimentene er fra fem ulike dyrestudier, og det er da ikke medregnet histopatologiske forandringer som var sett i lever for ytterligere to andre dyrestudier etter eksponering til PFASer, hvor det ble foreslått at det kunne være økt lipiddråpeakkumulering i leveren som årsak. (41, 45) Adipocytter som eksponeres til PFASer før eller under differensieringen av cellene, har vist økt lipidinnhold underveis i differensieringen eller i ferdigdifferensierte celler, som kan tyde på at PFASer stimulerer til adipogenese. (47, 56-59) Økt lipidinnhold i hepatocytter er observert *in vitro* etter eksponering, (25, 42, 48) og som nevnt tidligere var økte lipidnivåer i lever vist for flere dyrestudier etter at mus og rotter var eksponert til flere forskjellige PFASer. Kun en studie nevnte lipiddråpeakkumulering i kjernen av hepatocytter etter eksponering *in vivo*, og foreslo at det kunne bidra til PFOA-assosiert toksisitet. (38)

Økt triglyseridinnhold i celler/vev og økt genekspressjon/aktivering av PPAR γ er de to andre mest konsistente effektene sett etter eksponering til miljøgiftene, med seks studier som rapporterer om dette *in vitro*, og henholdsvis fire og tre *in vivo*. Økt triglyseridinnhold var observert i lever til eksponerte mus og rotter som nevnt tidligere, og det er observert *in vitro* i hepatocytter, (55) samt at det er rapportert om økt triglyseridinnhold i adipocytter som er eksponert før eller under differensiering, som kan tyde på at eksponeringen bidro til økt differensiering av cellene. (47, 57-60) PPAR γ er blant annet viktig for lipogenese og for differensiering av adipocytter, (32) og er nødvendig for dannelsen av fettvev i mus. (47) Positiv effekt på dens genekspressjon/aktivitet var sett i adipocytter og hepatocytter *in vitro*, (57-60) og i lever og i hvitt fettvev *in vivo*. (38, 47, 48) Det adipogenese-relaterte enzymet Lpl, (47) viste økt genekspressjon i lever (37, 42, 48, 50) og i hvitt fettvev (47) etter eksponering *in vivo*, og i museadipocytter etter eksponering *in vitro*. (57, 59) Lpl bidrar i kontrollen av lipidopptak til leveren, ved å ta opp triglyserider fra VLDL og kylomikroner, og mange aktivatorer til PPAR α kan øke aktiviteten til den, (32) og LPL er også et målgen til SREBPs. (48) Påvirkning av PPAR α viser å være et konsistent funn, med økt genekspressjon/aktivitet i tre studier gjort på celler og to på dyr. PPAR α -regulering er foreslått å være en viktig mekanisme bak flere av endringene etter eksponering til PFOS og PFOA, slik som blant annet hepatomegali. (48) Fysiologi og biokjemi bak PPAR α og PPAR γ er ellers grundigere omtalt innledningsvis under beskrivelsen av hormonforstyrrende stoffer.

Effektene som er nevnt så langt har det til felles at det er to eller flere studier, både *in vitro* og *in vivo*, som rapporterer om det samme. For de andre effektene i tabellen, er det svakere samsvar, siden det er ett eller flere positive funn for enten *in vitro* eller *in vivo*, og bare et positivt funn for motsatte studietype. Av disse resterende funnene er det særlig verdt å nevne den økte genekspressjonen til peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (ACOX1) og stearoyl-CoA desaturase-1 (Scd1), i henholdsvis fem og fire studier som er gjort *in*

in vivo. *ACOX1* er et målgen til $PPAR\alpha$, og *ACOX1* er et viktig enzym for betaoksidasjon av fettsyrer. (60) *SCD1* er en regulator for lipidmetabolismen, (60) og er involvert i blant annet lipidakkumulering. (44) *SCD1* er et målgen til SREBPs, som er en gruppe av transkripsjonsfaktorer som er viktig for cellulær kolesterol og fettsyremetabolismen i leveren, (48) og aktivering av SREBPs er involvert i blant annet lipogenese og kolesterol syntese, og kan aktivere gener for syntese av triglyserider og fettsyrer. (32)

I oppsummeringstabellen er det videre vist en viss konsistens for økt genekspressjon av to gener som har betydning for adipogenese, (47) nemlig *CEBP α* og *FABP4*. Andre konsistente funn som kan være verdt å nevne er økt ekspressjon til $PPAR\alpha$ -målgenet fatty acid-binding protein 1 (*FABP1*), og økt genekspressjon til sterol and regulatory element binding protein-1c (*SREBP1C*), som er et av de tre hovedproteinene i denne store gruppen av SREBPs. (48) Fatty acid translocase (*FAS*) er viktig for fordelingen av lipider i cellen, da dens oppgave er å frakte fettsyrer over cellemembranen og til cellens innside, (45) og det var påvist økt gen- eller proteinekspressjon i tre studier. I tillegg var det påvist økning i gener for nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (*NRF2*)- signalering; glutamate-cysteine ligase (*GCLC*) og NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (*NQO1*). Tan et al. (37) rapporterer om økt ekspressjon av *NQO1* i lever, mens Xu et al. (47) rapporterer om økt ekspressjon i hvitt fettvev, hvor aktivering av *NRF2*-signalering i sistnevnte vevstype er relatert til adipogenese.

Økt lipidinnhold i celler/vev og økt genekspressjon/aktivitet til $PPAR\gamma$, som begge var et av de mest konsistente funnene, viste å ha tre doseavhengig funn *in vitro*, i tillegg til ett slikt funn *in vivo*. Økt triglyseridinnhold i celler/vev etter PFAS-eksponering viser å ha fire doseavhengige funn *in vitro*, av de totalt seks *in vitro*-studiene som rapporterte om økning av fettinnholdet i celler. Genekspressjon og aktivitet til $PPAR\alpha$ og *CEBP α* som også viste seg å være noen av de mest konsistente funnene, hadde et doseavhengig-funn *in vitro*. Redusert proteinekspressjon til fosforylert protein kinase B (p-AKT), og økt celleantall/ proliferasjon, hadde begge et doseavhengig-funn. På bakgrunn av blant annet økt celleantall som var påvist i museadipocytter som ble eksponert under differensiering, ble det foreslått at PFASer kan ha en stimulerende rolle i adipocyttdifferensieringen. (60) AKT-signalering aktiveres av insulin og insulinlignende vekstfaktorer, og har en nøkkelrolle for metabolsk homeostase. Fosforylert AKT er aktiv, og redusert p-AKT kan ha betydning for redusert glukosetoleranse og økt insulinresistens. (34)

Syv studier er som nevnt gjennomført både *in vitro* og *in vivo*, og for flere av funnene i Tabell 3, rapporterer samme studie om positivt funn for både dyre- og celleeksperimentene de har gjort. At samme studie ser etter samme type effekt på dyr og celler, og får samme resultat, styrker kausaliteten mellom miljøgiften og den observerte effekten – selv om det er en fordel når flere ulike studier kan vise til det samme, slik som er tilfelle for økt lipidinnhold i celler/vev. Yan et al. (42) rapporterte om økt ekspressjon av proteiner relatert til

ER-stress i mus og i humane hepatocytter, mens ingen andre studier i denne litteraturstudien kan vise til det samme.

Motstridende funn *in vivo* og *in vitro* presenteres ikke i Tabell 3, men er også tilfelle for enkelte av de positive effektene presentert i tabellen; slik som Yan et al. (48) rapporterte om økt genekspressjon for PPAR γ og PPAR α *in vivo* etter PFOA-eksponeringen i mus, men om uendret ekspressjon *in vitro*. Økt lipidinnhold i celler og i vev som var rapportert fra flere, ble også for to studier *in vitro* og for en studie *in vivo*, rapportert å være uendret eller redusert, hvorav en med doseavhengig reduksjon. (44, 53, 60) For triglyseridinnhold i celler/vev var det rapportert om tre negative funn blant dyrestudiene og cellestudiene, (44, 48) noe som også gjelder for genekspressjon/aktivitet til PPAR γ . (25, 42, 48) I tillegg kan det nevnes et annet konsistent negativt funn; økt insulinstimulert glukoseopptak *in vitro* for studien Xu et al. (47) og *in vivo* for studien Yan et al. (40), hvorav doseavhengig *in vitro*. Samt konsistente negative funn *in vitro* og *in vivo* med økt genekspressjon av insulin receptor substrate 1 (*IRS-1*) og glukosetransporter type 4 (*GLUT4*). (47, 57)

Motstridende funn for samme studie *in vitro* og *in vivo*, samt også at ulike studier viser forskjell *in vitro* og *in vivo*, bidrar til usikkerhet om årsakssammenheng, på tross av doseavhengige responser og samsvar mellom celle- og dyrestudier.

Menneskestudier

I tabeller 4-1-4.3 vises resultatene fra de 10 epidemiologiske studiene som var aktuelle å ha med i oppgaven, da de omhandlet eksponering til PFASer og helseeffekter som diabetes, metabolsk syndrom og fedme. Alle er utgitt i løpet av de tre siste årene. Tre av dem er tversnittstudier, og presenteres i tabell 4.1, i tabell 4.2 oppgis to kasus-kontrollstudier, mens tabell 4.3 inneholder to prospektive kohortstudier. I tillegg er tre av studiene designet som både prospektiv kohortstudie og tversnittstudie, og resultat fra de tre presenteres i både tabell 4.1 og 4.3. For statistiske mål henvises til tabellene, og i avsnittene nedenfor presenteres funnene fra de ulike studiedesignene hver for seg.

Positiv assosiasjon mellom PFOA og prevalent diabetes for menn (dose-respons-forhold) og total kolesterol for begge kjønn, rapporteres fra He et al. (61), som er en større tversnittstudie med 7904 deltagere basert på data fra NHANES i USA, mellom 2003 og 2012. Seo et al. (62) angir at pasienter med diabetes hadde høyere nivå av PFHxS enn pasienter uten diabetes, blant en koreansk studiepopulasjon. Cardenas et al. (63) viste at PFOS og PFOA er assosiert med forhøyet langtidsblodsukker, fastende insulin og fastende blodglukose, og studien var gjennomført på voksne som var i økt risiko for å utvikle diabetes type 2. Yang et al. (64) fant positiv assosiasjon mellom PFNA til metabolsk syndrom, fedme, blodtrykk og serumtriglyserider, blant en liten populasjon av voksne fra Kina. Den koreanske studien (62) og en dansk/europeisk studie (65) rapporterer om henholdsvis upåvirket korrelasjon mellom PFOA og PFOS til

overvekt og fedme, og negativ assosiasjon mellom PFOA og midjemål. He et al. (61) og Starling et al. (66) rapporterer om henholdsvis upåvirket fastende blodglukose og negativ assosiasjon med blodglukose for PFOA.

Da katastrofen på Verdens handelssenter (World Trade Center) i New York inntraff i september 2001, ble befolkningen som bodde i området på det tidspunktet utsatt for flere kjemikalier. Tenåringer/unge voksne som for 15 år siden befant seg i nærliggende områder i New York på den dagen, viser å ha positiv assosiasjon mellom PFOA og forhøyete serumverdier av triglyserider, total kolesterol og LDL i kase-kontrollstudien fra Koshy et al.(67). Derimot viser PFOS og PFOA ingen assosiasjon med BMI, samt PFOS er assosiert med økt HDL, og PFHxS er assosiert med redusert insulinresistens. Sun et al. (68) publiserte en nestede kase-kontrollstudie gjennomført på kvinnelige helsearbeidere i USA, og viser assosiasjon mellom PFOS og PFOA til insident diabetes type 2 ved median 6,7 års oppfølgingstid. Studien viser til et dose-respons-forhold mellom PFOS og diabetes type 2.

Mora et al. (69) og Lauritzen et al. (70) rapporterer to prospektive kohortstudier som måler PFAS-nivåer under svangerskapet til mor, og ser om det er en assosiasjon med uheldige helseeffekter hos avkommet i tidlig barndom. PFOA og PFOS er assosiert med høyere risiko for overvekt/fedme blant norske og svenske femåringer, (70) mens det derimot er vist assosiasjon mellom PFOA og høyere HDL og lavere triglyserider hos amerikanske barn. (69) Starling et al. (66) rapporterer om at PFOA-nivåer målt under svangerskapet hos mor, er assosiert med lavere fødselsvekt og mindre fedme hos de nyfødte barna, og studien påpeker at lavere fødselsvekt gir økt risiko for metabolsk sykdom senere i livet. En dansk/europeisk kohortstudie fulgte opp barn fra niårsalderen og til de var 21 år. Konsentrasjon av PFOS eller PFOA som niåring er assosiert med økt BMI, hudfoldtykkelse og midjeomkrets, og redusert betacellefunksjon, når barna ble 15 år.

Hudfoldtykkelse og midjeomkrets i en alder av 21 år, var også positivt assosiert med PFOS-nivåer som niåring. (65) En kohortstudie gjort på en befolkning som var i økt risiko for å utvikle diabetes type 2, viste ingen assosiasjon mellom PFOA og PFOS til insident diabetes type 2 ved median 2,9 års oppfølging. (63)

For flere av funnene er det inkonsistens mellom studiene. I tillegg til at innad i samme studie kan enkelte miljøgifter være assosiert med en effekt, mens andre ikke; slik som at Sun et al. (68) rapporterer om at PFOS og PFOA er assosiert med insident diabetes type 2, mens PFHxS og PFNA ikke er det. Det er få studier som er inkludert i oppgaven for å kunne snakke om konsistente funn i mennesker. Allikevel, for de funnene som er nevnt i tabellene og for alle studiene sett under ett, er de mest konsistente; økt HDL, (64, 67, 69) fedme, (64, 65, 70) diabetes, (61, 62, 68) økt totalkolesterol, (61, 62, 67) og økt triglyserider (62, 64, 67)

Diskusjon

Etter sammenligning av studiene gjort *in vivo* og *in vitro*, viste det seg at de funnene som er mest konsistente og viser doseavhengige effekter, var økt lipid og triglyseridinnhold i celler/vev, genekspressjon og aktivering av kjernereseptorene PPAR α og PPAR γ som er viktig for lipidmetabolisme og energihomeostase, og økt genekspressjon av *LPL* og *CEBPa* – to gen viktig for henholdsvis lipidopptak til lever og adipogenese. I tillegg var det flere positive funn for økt genekspressjon av *ACOX1*, *SCD1*, og *FABP4*, som er viktige for henholdsvis betaoksidasjon av fettsyrer, lipidakkumulering og adipogenese. Et flertall av funnene i oppsummeringstabellen er relatert til lipidmetabolismen. Økt triglyserid- og lipidinnhold i celler var påvist for flere ulike cellestudier, på flere ulike celletyper og for flere typer PFASer, og var derfor de mest konsistente funnene fra cellestudiene. Økt levervekt og fettakkumulering i lever er to av de mest konsistente funnet blant dyrestudiene, i tillegg til forhøyete serumtransaminaser som er markører for leverskade. Redusert vekt de første leveuker rapporterte to prenatale dyrestudier om, og det er da interessant at en av dem viste tegn på diabetes som voksen, siden lav fødselsvekt er assosiert med metabolsk sykdom senere i livet. (51, 52) På den andre siden var det konsistens blant dyrestudiene for redusert kroppsvekt. Det er få epidemiologiske studier i mennesker som er inkludert i oppgaven, allikevel kan det trekkes frem at prospektive kohortstudier rapporterer om at morens konsentrasjon av PFOA under svangerskapet er assosiert med lavere fødselsvekt (66) og gir økt risiko for overvekt/fedme hos barna ved femårsalderen, (70) samt at PFOS-nivåer som niåring er assosiert med økt midjemål seks og tolv år senere. (65) En tversnittstudie var den eneste studien som undersøkte om assosiasjon til metabolsk syndrom, og den rapporterte om økt risiko. (64) To tversnittstudier rapporterer om assosiasjon til diabetes, (61, 64) og en kase-kontrollstudie fant assosiasjon med diabetes type 2, (68) mens en kohortstudie viser ingen sterk assosiasjon til diabetes type 2. (63) Både cellestudier, dyrestudier og studier i mennesker viser derfor flere konsistente funn som taler for mulig kausal assosiasjon mellom PFAS-eksponering og utvikling av metabolsk syndrom, diabetes type 2 og fedme.

Plausible forklaringer

Hill mente plausible forklaringer var et krav vi ikke kunne forlange, da det er avhengig av kunnskap per dags dato. (12) Men på bakgrunn av det vi vet i dag, finnes det mekanismer som på troverdig vis kan forklare de observerte effektene?

Yan et al. (42) påviste økt ekspresjon av proteiner relatert til ER-stress *in vivo* og *in vitro*, og foreslår PFAS-indusert ER-stress som mekanisme til toksiske effekter induert av PFASer. Dette fordi ER-stress inhibitor sammen med PFOA ga redusert ekspresjon av markører for PFOA-indusert ER-stress både *in vivo* og *in vitro*, i tillegg til at det reduserte den forhøyete serumverdien av ALAT og ga mindre redusert HDL og

totalt kolesterol hos musene. Derimot hadde inhibatoren for ER-stress ingen eller liten effekt på redusert kroppsvekt eller økt levervekt.

Mus som ble eksponert til PFOS viste økt genekspressjon av Nrf2-signalering i hvitt fettvev, samt økt ekspresjon i eksponerte adipocytter. Det ble også rapportert at PFOS ga økt binding av transkripsjonsfaktoren Nrf2 til musepromotoren i adipocytter, som er viktig for ekspresjon av dets målgener. Aktivering av Nrf2-signalering kan videre aktivere PPAR γ og Cebp α , som begge bidrar til adipogenese, og det er foreslått at dette kan være en mekanisme til økt fedme. (47) Xu et al. (47) foreslår videre at PFOS gir økt dannelse av ROS, og at oksidativt stress kan aktivere Nrf2-signaleringen. PFOA-eksponering i mus er vist å øke oksidative stress responsive-gener *in vitro* og *in vivo*, og gi forstyrret antioksidantforsvar i leveren til mus. (42) Uavhengig av aktivering via oksidativt stress, er PFOS vist å ha agonistisk effekt på PPAR γ . (58)

PFOS er også vist å ha agonistisk effekt på PPAR α , samt å passe inn i bindingssetet til reseptoren hvor ligander binder, og sannsynligvis aktivere reseptoren på samme måte som fettsyrer. (58) Eksponering til PFOA er også vist å gi økt genekspressjon av PPAR α og dets målgener. (42) Økt genekspressjon/aktivering av PPAR α er et av de mest konsistente funnene i denne litteraturstudien, i tillegg til dets ene målgen *ACOX1*. PPAR α er foreslått å være en viktig mekanisme bak flere av endringene etter eksponering til flere PFASer, inkludert PFOS og PFOA; slik som hepatosteatose, hepatomegali, hypertrofi av leverceller, aktivering av fettsyreoksidering og endringer i lipidmetabolismen. (3, 48) Samt foreslått å være årsak til reduserte serumverdier av kolesterol som følge av den hypolipidemiske effekten til PPAR α . (48) Tan et al. (37) rapporterte om at funnene i lever etter at mus var eksponert til PFOA, tydet på PPAR α aktivering; det var rapportert om økt lipidakkumulering, økt fettsyremetabolitter og redusert glukosenivåer, samt økt genekspressjon for fettsyreoksidering og opptak, og redusert ekspresjon av gener involvert i glukosemetabolismen. Allikevel er det sett endringer i PPAR α null-mus; PFNA, PFOA og PFHxS ga alle økt levervekt og økt innhold av lipider og triglyserider i leveren til villtype-mus, i tillegg til å gi økt levervekt også i PPAR α null-mus. PFHxS og PFNA ga i tillegg økt lipid- og/eller triglyseridakkumulering i leveren til mus uten PPAR α , og det var sett lignende endringer i genekspressjon i PPAR α null-mus som i villtype-mus, dog i noen mindre grad. PPAR α -agonisten viste derimot ikke økning i syntesegener for triglyserider og fettsyrer i PPAR α null-mus, slik som var tilfelle etter eksponering til PFASene. Dette kan tyde på at det er andre mekanismer bak hepatosteatose og hepatomegali enn kun PPAR α . (32)

Das et al. (32) rapporterer at det er en kjent sak at flere PFASer gir lipid- og triglyseridakkumulering i lever til mus og rotter. Dette er noe som stemmer overens med resultatene i denne litteraturstudien. Som nevnt i ovenstående avsnitt, kan det tyde på at det er andre mekanismer i tillegg til PPAR α som ligger bak. Hemmet mitokondriell betaoksidasjon av fettsyrer er en hypotese til PFAS-indusert hepatosteatose, men Das et al.

(32) viste derimot at PFOA og PFOS ikke har hemmende effekt på betaoksidasjon av fettsyrer. Triglyserider transporteres fra leveren via VLDL, og VLDL nedbrytes til LDL som frakter kolesterol videre til de ulike vevene i kroppen. Serumverdien av LDL er rapportert å ha blitt redusert etter eksponering for PFOS hos mus, (35) og genekspressjon av apolipoprotein-B (Apo-B) som er et protein viktig for dannelse av VLDL, er vist å bli redusert etter eksponering til PFNA og PFHxS, (32) samt etter eksponering til PFOA. (41) Derfor er det foreslått at PFASer kan hemme lipidsekresjon fra leveren, slik at det kan forklare leversteatosen. (32) Wang et al. (35) forklarer at PFOS-eksponering kan ha gitt hemmet LDL-sekresjonen fra leveren, som kan forklare fettakkumuleringen, og at det derfor ikke er leverskade som følge av eksponering til miljøgiften som gir hepatosteatose. På den annen side; mange aktivatorer til PPAR α kan gi økt opptak av triglyserider i leveren, ved å gi økt aktivering av LPL. LPL bidrar blant annet i kontrollen av lipidopptak til leveren, ved å ta opp triglyserider fra VLDL og kylomikroner. Dette fettspaltende enzymet kan aktiveres av spesifikke kofaktorer, og hemmes av spesifikke lipoprotein, som blant annet apolipoprotein C-III (APOC3). (32) Økt aktivitet til LPL kan muligens gi hepatosteatose, (32) samt være forklaringen til reduserte serumverdier av triglyserider sett *in vivo* for PFOS hos rotter (44) og i mus for PFOA. (38, 41, 53) Økt genekspressjon til LPL er et av de mest konsistente funnene i denne oppgaven, og Yan et al. (48) påviste redusert ekspressjon av det hemmende lipoproteinet APOC3 etter at mus var eksponert til PFOA.

Etter at mus ble eksponert til PFOA ble det rapportert om en økning i målgen til SREBPs, dens transkripsjonsfaktorer, og i proteiner relatert til dens modning. (48) Økt genekspressjon til *LPL* og *SCD1* var to av de mest konsistente funnene i oppgaven, og begge er to målgener til SREBPs. Økt genekspressjon til SREBP1C er også å finne oppsummeringstabellen for mest konsistente funn, og SREBP1C er et av de tre hovedproteinene i denne store gruppen av SREBPs. (48) SREBPs er en gruppe av transkripsjonsfaktorer som er viktig for kolesterol i celler og fettsyremetabolismen i leveren, (48) og aktivering av SREBPs er involvert i blant annet lipogenese og kolesterolsyntese. SREBPs kan aktivere gener for syntese av triglyserider og fettsyrer, og aktivering er foreslått å være en mekanisme til hepatosteatose. (32) Yan et al. (48) forklarer at den påviste reduksjonen i totalkolesterol i muselevrene etter PFOA-eksponering, kan ha bidratt til økningen i proteiner relatert til modning av SREBPs, slik som en mikroribonukleinsyre-gruppe (miRNA cluster) kalt miR-183-96-182.

Abe et al. (43) rapporterte om økt levervekt på en CAR-uavhengig måte etter at mus ble eksponert til PFOA, men studien viste at reseptoren ble aktivert, (såkalt nukleær translokasjon av reseptoren), etter eksponering til PFOA, PFNA og PFDA. Oshida et al. (39) rapporterte om økt hepatocyttoproliferasjon på en CAR-uavhengig måte etter eksponering til PFOA, og CAR-uavhengig økt levervekt etter eksponering til PFOA og PFOS. Begge de nevnte studiene kunne vise til økt ekspressjon av målgen for både CAR og PPAR α i lever, og Oshida et al. (39) foreslår at CAR aktiveres av PFOA og PFOS, men at kjernereseptoren

sannsynligvis spiller en mindre viktig rolle i forhold til PPAR α med tanke på å bidra til de toksiske effektene sett i lever etter eksponering til PFASer.

Som nevnt tidligere, har AKT-signalering en nøkkelrolle for metabolsk homeostase, AKT aktiveres av insulin og insulinlignende vekstfaktorer. Eksponering til PFOA på mus er vist å gi økt serum-insulin og fastende blodglukose, med redusert protein- og genekspressjon av p-AKT (den aktive fosforylerte formen) og redusert proteinnivå av GLUT4 i hvitt fettvev. GLUT4 er lokalisert på cellens overflate, og bidrar til at cellen kan ta opp glukose fra blodet. Samtidig ble det påvist en doseavhengig økning i protein- og genekspressjon av phosphatase and tensin homologue (PTEN), som er en inhibitor til phosphatidylinositol 3-kinase-serine/threonine protein kinase (PI3K-AKT) -signalering. (34) Redusert proteinekspressjon av p-AKT er også vist *in vitro* på humane hepatocarcinoma celler (HepG2). (55) På den annen side; mus eksponert til PFOA i 28 dager viste økt glukosetoleranse og insulinsensitivitet, samtidig som det ble påvist redusert innhold av PTEN i leveren. I tillegg var det påvirket fosforylering og ekspresjon til flere andre proteiner i PI3K-AKT- signaleringsveien, og det ble foreslått at dette kunne bidratt til den økte glukosetoleransen. (40) Xu et al. (47) viste økt insulinstimulert glukoseopptak og økt genekspressjon relatert til insulinsignalering, i museadipocytter etter eksponering til PFOS, deriblant økt ekspresjon til IRS-1 og GLUT4. I tillegg til å påvise økt genekspressjon relatert til insulinsignaleringen i hvitt fettvev til eksponerte mus.

Mus eksponert til PFOS under svangerskapet viste å ha påvirkete gener relatert til lipid og glukosemetabolismen ved avsluttet amming, og i voksen alder viste de økt serum-insulin og fastende blodglukose, slik at prenatal eksponering virket å få betydning som voksen. (50) Det foreslås at den underliggende mekanismen og helseeffekter, kan være forskjellig avhengig om man blir eksponert i svangerskap og under amming, i forhold til eksponering som voksen. (51) Van Esterik et al. (53) foreslår at prenatal eksponering kan gi metabolsk programmering, og at det kan være årsak til forstyrret metabolsk homeostase senere i livet, og DNA-metylering er en epigenetisk mekanisme som er foreslått å kunne være affisert. Van den Dungen et al. (71) rapporterte om at såkalte differentially methylated regions (DMRs) var spredt i genomet, deriblant i insulinlignende vekstfaktor-1 (IGF-1) -signaleringsveien, i ferdig utviklete adipocytter som var eksponert som preadipocytter. Sant et al. (72) undersøkte derimot pankreas til sebrafiskembryo som ble eksponert til PFOS, og rapporterte om at områdene i pankreas som vil være ansvarlig for insulinproduksjonen i en ferdig utviklet sebrafisk, hadde endret morfologi og redusert betacellemasse etter eksponering.

Et av de mest konsistente negative funnene i denne oppgaven er redusert kroppsvekt *in vivo*. PFOA og PFOS er vist å fungere som substrat for termogenesen (varmeproduksjon) i brunt fettvev-mitokondrier til mus, ved å aktivere og reaktivere uncoupling protein 1 (UCP1)-mediert termogenese. (73) Økt varmeproduksjon i brunt fettvev etter PFAS-eksponering er en hypotese til redusert fettvev og redusert

kroppsvekt observert i mus etter eksponering til PFASer, siden termogenese er energikrevende. (49) Derimot foreslår Shabalina et al. (49) at det kan tyde på at reduksjonen i kroppsvekt kan komme av en reduksjon i matinntak, som er avhengig av tilstedeværelsen til proteinet UCP-1 i musene. Slik at UCP1-avhengig reduksjon i matinntak, heller enn økt energikrevende termogenese, er årsaken til vekttapet etter eksponering til PFASer. Noe studien foreslår siden de påviste reduksjon i både kroppsvekt og matinntak som begge viste å være avhengig av tilstedeværelsen UCP1 i mus etter eksponering til PFOA og PFOS, i eksperiment gjort på villtype-mus og UCP1 null-mus. UCP1 er et protein i brunt fettvev hos mus, så hvilken konsekvens dette har for mennesker er mer uvisst, da brunt fettvev i liten grad finnes i voksne mennesker. (49) En annen studie rapporterer også om redusert matinntak hos mus eksponert til PFOA, (35) mens det på den annen side er rapportert om uendret matinntak hos mus etter prenatal eksponering til PFOA og PFOS. (52)

Kan PPAR α spille en rolle med tanke på kroppsvekten? Casals-Casas et al. (3) rapporterte i 2011 om at konsekvensene av den påviste aktiveringen av PPARs *in vitro* etter eksponering for PFASer, var mer uklart *in vivo*; voksne mus har vist redusert kroppsvekt som er PPAR α -avhengig, mens det på den annen side er rapportert om uendret kroppsvekt etter eksponering til PFAS for voksne mus. Das et al. (32) fant at det ikke var noen signifikante endringer i kroppsvekt etter sju dagers eksponering til PFOA, PFNA og PFHxS i villtype-mus og i PPAR α null-mus. Yan et al. (42) rapporterer også om uendret kroppsvekt i mus eksponert som voksne, samt at to prenatale studier rapporterer om uendret kroppsvekt i voksen alder. (50, 52)

Er eksperimentelle funn på dyr overførbare til mennesker?

I «The Environment and Disease» nevnte Hill at eksperimenter kan bidra til å styrke kausalitet. (12) Studier på cellekulturer som eksponeres til miljøgifter er nyttige da mange ulike tilstander kan testes på mange ulike doser. Flere hormonforstyrrende stoffer kan derimot reagere med flere ulike typer reseptorer, og de ulike typene reseptorer vil kunne være uttrykt i ulik grad i flere forskjellige vev og til ulike tider. Eksperiment på dyr har derfor mulighet for en helhetlig respons, og eksperiment på celler kan gi en helt motsatt respons enn på dyr. Eksperiment på dyr kan dermed bidra til fornuftige forklaringer til hvordan vi mennesker vil kunne reagere på eksponering til PFASer i forhold til studier på celler. Det er allikevel viktige forskjeller mellom dyr og mennesker, såkalte «inter-species» forskjeller. (3) Det er vist at i leveren til mennesker er det flere ganger lavere innhold av mRNA (budbringer-RNA)-nivåer til PPAR α enn i muselever. (74) Høyere nivåer kan gi en sterkere effekt av PFAS-eksponering på mus enn i mennesker, og det er foreslått at dette kan forklare hyperlipidemi observert i epidemiologiske studier i mennesker og reduserte kolesterolverdier sett i mus. (75) På grunn av forskjell i bindingsstedet hvor ligander binder («ligand-binding domains») i CAR til mus og mennesker, aktiveres de av ulike ligander, og det er derfor mulig at disse reseptorene har ulike roller i mus og mennesker, og også andre arter. (76) Som nevnt innledningsvis, har både CAR og PXR en viktig

rolle som «ryddehjelper» i kroppen, siden de er viktige for å fjerne fremmede og/eller farlige stoffer. Slik som for CAR, er PXR også vist å ha betydelige artsforskjeller i bindingssetet hvor ligander binder reseptoren. Det kan derfor tyde på at også denne reseptoren vil kunne aktiveres av ulike ligander i mus, sebrafisk og mennesker, samt andre arter. (77) I tillegg til «inter-species»- forskjeller, diskuterer Ngo et al. (52) at resultat i studien som ikke stemmer overens med tidligere studier på samme type dyr, kan ha å gjøre med at ulike musetyper kan ha ulik sensitivitet for miljøgifter.

Dose er et annet dilemma med tanke på effekter sett i dyr og betydningen det har for mennesker. (3) Hill tydeliggjør at tilstedeværelsen av årsak er essensiell for at sykdom skal oppstå, (12) og mengde eksponering kan velges på laboratorium. Wu et al. (41) oppgir at PFOA på 1 og 5 milligram per kilogram per dag (mg/kg/dag) for mus, tilsvarer 30 og 160 ganger større eksponering enn i den generelle befolkningen. Den prenatale studien van Esterik et al. (53) begrunner valget av PFOA-doseringen i dietten til musemødrene, på 0,003 mg/kg/dag til 3 mg/kg/dag, ut fra det som i dag ligger ved og under grensen for «no-observed-adverse-effect level» (NOAEL). Konsentrasjonene på doseringene i studiene på rotter og mus varierer, og flere av studiene har kun valgt doseringer over eller lik 1 mg/kg/dag. (32, 34, 35, 37-39, 41, 43, 45) Lv et al. (51) forklarer at effektene med prediabetes sett i voksne rotter etter prenatal eksponering, er mindre sannsynlig å kunne skje hos mennesker. Dette fordi PFOS-konsentrasjonene som ble målt hos rottene var to til tre ganger høyere sammenlignet med PFOS-nivåer målt i den generelle befolkningen, rapportert i fra flere epidemiologiske studier. Halveringstiden til PFOS er omtrent 4,8 år hos mennesker, og for enkelte rotter er den 1-2 måneder, mens for PFOA er halveringstiden 3,5 år i mennesker, og kun dager og timer i henholdsvis hannkjønn-rotter og hunnkjønn-rotter. (24) Selv om uheldige helseeffekter observeres i eksperimenter på rotter med høyere PFOS-doser enn den generelle befolkningen eksponeres for, så foreslår Lv et al. (51) at det allikevel er en mulighet for at mennesker kan være sårbar til de uheldige helseeffektene, da utskillelsestiden av PFOS fra serum er mye lengre i oss mennesker enn rotter.

Eksponeringslengde er et tredje problem. Mus lever mye kortere enn mennesker, og kronisk eksponering for mus kan tenkes å være to til tre måneders eksponeringstid. Kan effekter etter kronisk eksponering for mus overføres til kronisk eksponering hos mennesker - kronisk eksponering i den betydning av over flere år og tiår? (3) Med unntak av studiene som omtaler prenatal eksponering og tversnittstudien på katter, varierer varigheten på eksponeringen fra fire timer til 36 dager. Ulik eksponeringstid kan kanskje også forklare ulike effekter sett i de ulike dyrestudiene. Vil måten dyrene eksponeres på også være av betydning? 60% av dyrene oppgis å eksponeres via oral tvangsadministrering («oral gavage»), mens øvrige eksponeres via dietten, intragastrisk eller intraperitonealt. Ngo et al. (52) begrunner peroral eksponering ved at det ligner best på hvordan mennesker eksponeres. Eksponering via diett uten å måle matinntak eller serumnivå av

PFASer underveis i studien, kan bidra til skjevhet i eksponering blant dyrene i studien, og kan tenkes å ha betydning for resultatet.

Kvaliteten på dyrestudiene varierer, som vil ha betydning for troverdigheten til resultatene de rapporterer. Bare 13 av de 22 dyrestudiene tester for dose-respons-forhold, og uten å gjøre eksperimenter med flere doser, er det ikke mulighet til å si noe om den «biologiske gradienten», som Hill mente man burde vurdere i spørsmålet om kausalitet. Hill mente videre at reproduserbarhet av funn styrker kausaliteten ytterligere, men bare et fåtall studier oppgir å ha gjennomført hele studien flere enn en gang og/eller oppgir enkeltresultat som et gjennomsnitt av å ha gjort flere uavhengige eksperiment innad i studien. (35, 38, 50, 52) En studie oppgir ikke totalt antall dyr eller antall dyr per forsøk. (45) Hva kan regnes som «nok antall dyr» per forsøk eller per studie er lite omtalt blant de inkluderte studiene, men en av studiene med prenatal eksponering angir hvorfor de utelukker barnekull med for få eller for mange avkom, da størrelsen på barnekullet ikke skal konfundere postnatal vekt. (53) Flere av studiene gjort på celler har brukt kun en dose på alle eksperimentene som gjennomføres, (42, 45, 78, 79) mens noen studier har brukt mer enn en dose for noen av eksperimentene sine og andre av eksperimentene med kun en dose. (43, 44, 47, 57, 71) Et fåtall cellestudier oppgir ikke antall ganger eksperimentene gjennomføres, enten gjennom hele studien (45) eller for flere av eksperimentene. (47, 71)

De epidemiologiske studiene: Assosiasjonens styrke

Assosiasjonens styrke kan si oss noe om sannsynligheten for assosiasjon mellom effekt og årsak, dog det ikke kan gi det endelige svaret på om det faktisk er en kausal assosiasjon, skrev Hill. (12). Tversnittstudier kan gi assosiasjon mellom miljøgifter og diverse sykdommer, men tidsaspektet om at årsak må komme før sykdom, kan ikke bestemmes da disse måles samtidig. (13) En svakhet ved en god del av litteraturen som finnes om assosiasjonen mellom POPer og diabetes, er at det er tversnittstudier. (7, 10) Det har allikevel blitt argumentert for at det er usannsynlig at diabetes kommer før POPer, siden POPer opphopes i fettvevet, og dermed kan bidra til et kontinuerlig lav-dose utslipp til blodsirkulasjonen over flere år. Slik sett vil en sakte eliminering av enkelte POPer gi en vedvarende «indre eksponering», uansett om det var flere år siden vi ble eksponert. (80) Fem tversnittstudier er tatt med i dette litteraturstudiet, hvorav He et al. (61) oppga positiv assosiasjon mellom PFOA og prevalent diabetes basert på en stor befolkningsgruppe (7904), samtidig som resultatet var oppgitt i odds ratio på 2.66, hadde smale konfidensintervall, og lav p-verdi lik 0.001. Dette i motsetning til Yang et al. (64), som oppga assosiasjon til metabolsk syndrom, basert på kun 148 deltagere og hadde svært brede konfidensintervall. Seo et al. (62) fant positiv assosiasjon mellom diabetes og PFHxS blant 786 deltagere. Blant disse 786 som hadde fått målt PFAS-konsentrasjoner i blodet, var det kun 68% som møtte opp for videre prøvetaking, og bare 44 personer av disse hadde diabetes. Det var altså svært få som faktisk hadde utfallet som ble undersøkt.

I en kasus-kontrollstudie vil informasjonen om eksponeringen til risikofaktorer tilbake i tid, og informasjonen om sykdom nå, innhentes samtidig av studiegruppene i nuet. Således vil tidsaspektet være likt som i en tversnittstudie, men en viktig forskjell er derimot at deltagerne er plukket ut fra spesifikke grupper i befolkningen, med og uten diabetes/fedme eller andre effekter som ønskes undersøkt. (13) Sun et al. (68) er derimot en nested kasus-kontrollstudie, hvor studiepopulasjonen er hentet fra kohortstudien Nurses' Health Study II. Kvinnelige amerikanske helsearbeiderne uten diabetes type 2 målte PFAS-verdier mellom 1995 og 2000, og det ble frem til 2011 rapportert om hvem som utviklet diabetes type 2, hvor median oppfølgingstid var 6,7 år. De som utviklet diabetes ble kasusgruppen, mens kontrollgruppen ble valgt ut fra de som ikke utviklet diabetes, og studien rapporterer om assosiasjon mellom PFOA og PFOS til insident diabetes type 2. Koshy et al (67) er en matched kasus-kontrollstudie, der kasusgruppen er basert på en høyrisikopopulasjon av unge voksne og tenåringer, som for 15 år siden var bosatt i New York da katastrofen på Verdens handelssenter skjedde. Studien rapporterte om assosiasjon mellom PFOA og tidlige tegn på kardiovaskulær sykdom og aterosklerose; som økte triglyserider, totalkolesterol og LDL. En videre longitudinal studie på denne studiepopulasjonen kunne dermed vært interessant, for å se om de utviklet sykdom når de ble eldre. Det er blitt diskutert som en svakhet for flere studier gjort på høyrisikopopulasjoner, at konsentrasjonene av POPer måles mange år senere enn da populasjonen faktisk ble eksponert, og som kan bidra til feilaktige assosiasjoner nå, selv om mange POPer har en sakte eliminering hos mennesker. I så fall kan man tenke seg, at en positiv assosiasjon målt mange år etter eksponering, vil kunne være en undervurdering av den sanne assosiasjonen. (10) For begge disse overnevnte kasus-kontrollstudiene kan man uansett spørre seg om generaliserbarheten av resultatene med tanke på de spesifikke populasjonene, og kanskje spesielt for sistnevnte studiepopulasjon, som i ung alder ble eksponert for høyere konsentrasjoner av PFASer enn den generelle befolkningen eksponeres til.

PFAS-konsentrasjonene i høyrisikogruppen målt 15 år etter katastrofen med Verdens handelssenter er allikevel lavere enn i den generelle amerikanske befolkningen målt mellom 2003 og 2012. He et al. (61) rapporterer nemlig om median PFOS-konsentrasjon på 20,80 ng/mL og 14,51 ng/mL, og median PFOA-konsentrasjon på 4.50 ng/mL og 3.46 ng/mL, for henholdsvis menn og damer. Mens Koshy et al. (67) rapporterte om median konsentrasjon av PFOS og PFOA for begge kjønnene samlet på henholdsvis 3.72 ng/mL og 1.81 ng/mL i høyrisikopopulasjonen. Konsentrasjonen i høyrisikogruppen er dog signifikant forskjellig fra kontrollgruppen i samme studie, hvorav median PFOS- og PFOA-konsentrasjon er henholdsvis 2.78 ng/mL og 1.39 ng/mL. Den amerikanske kasusgruppen med kvinnelige helsearbeidere angir median PFOS-konsentrasjon på 35,7 ng/mL og PFOA på 4,96 ng/mL, målt mellom 1995 og 2000. (68) Som nevnt tidligere, var det mellom 1979 til 2001 påvist en stor økning i nivåene av PFOA og PFOS målt i nordnorske menn, noe som samsvarer med når stoffene i størst grad ble produsert globalt sett, og det er vist

at konsentrasjonene av disse har blitt redusert siden starten på 2000-tallet. (22) Dette er noe som kan forklare forskjellene mellom PFAS-nivåene målt i disse studiene.

He et al. (61) som selv rapporterte om assosiasjon til diabetes, viser til andre studier med invers assosiasjon. Studien diskuterer rundt at forskjeller mellom studier nettopp kan komme av ulike PFAS-konsentrasjoner mellom studiepopulasjoner, samt at PFOA-konsentrasjoner er vist å variere fra ulike steder i verden. Oversiktsartiklene Taylor et al. (7) og Magliano et al. (10) rapporterer om ingen assosiasjon mellom PFASer til henholdsvis diabetes type to og diabetes. De baserer resultatene på flere tversnittstudier fra NHANES, og en populasjon som var i høyrisiko etter å ha vært utsatt for PFOA-forurenset drikkevann, hvorav alle studiepopulasjonene er fra USA.

He et al. (61) diskuterer videre om ulike definisjonskriterier av diabetes og forskjellige prøvesamling- og analyseprosedyrer av PFAS-blodprøvene kan være av betydning for tvetydige funn. I dens egen studie ble alle deltagere ved studiestart spurt av en intervjuer om de hadde diabetes, og svarte de ja, ble de kategorisert som å ha diabetes. Type diabetes ble ikke fastslått, men studien argumenterer for at man kan anta at det er høyere prevalens av diabetes type 2, da studien er gjort på en generell befolkning. Den andre tversnittstudien som rapporterte om assosiasjon til diabetes hadde heller ikke skilt mellom diabetes type 1 og type 2, men derimot gjennomgikk alle deltagerne en standard helsesjekk hvor kliniske indikatorer som blant annet blodglukose ble målt, og de unngikk dermed problemene med selvrapporing. (62) Den nestede kasus-kontrollstudien (68) som rapporterte om assosiasjon til diabetes type 2 for PFOA og PFOS, brukte validerte spørreskjema hvor deltagerne rapporterte om blodglukose, medisinbruk og diabetes-relaterte symptomer, og studiens definisjonskriterier for diabetes type 2 avgjorde så om de kunne kategoriseres med sykdommen eller ikke. En svakhet for flere studier som undersøker om det er assosiasjon mellom diabetes og POPer, er at flere studier belager seg på selvrapporert historie med diabetes, og at det er et dårlig skille mellom diabetes type 1 og type 2 - to sykdommer som har svært ulike bakenforliggende årsaker. (9) He et al. (61) diskuterer også rundt det faktum at assosiasjonen med diabetes i studien kun gjaldt for menn; kan damer ha andre elimineringsveier av PFASer enn menn, slik som menstruasjon og amming, samt at PFOA er vist å kunne interagere med østrogenreseptor-alfa.

Fem prospektive kohortstudier er inkludert, hvorav tre har positive funn. De prospektive studiene kan si oss mer om tidsaspektet og signifikante estimatmål kan i større grad enn førstnevnte to studiedesign, si oss mer om assosiasjonens styrke, siden man måler risikofaktorer, som PFAS-konsentrasjoner, før sykdom inntreffer, og studiepopulasjonene følges over tid for å se hvem som utvikler uheldige helseeffekter. (13) Cardenas et al. (63) rapporterte om ingen assosiasjon mellom PFOA og PFOS til insident diabetes type 2 i løpet av median 2,9 år oppfølging blant en populasjon som var i risiko for å utvikle diabetes. Den nestede kasus-kontrollstudien (68) som rapporterte om assosiasjon til diabetes type 2 hadde median oppfølgingstid

på 3.8 år lengere. For kort oppfølgingstid for førstnevnte studie kan være en forklaring til den negative assosiasjonen, siden deltagerne ved studiestart viste å ha signifikant assosiasjon mellom PFOS- og PFOA-konsentrasjoner til fastende blodglukose og fastende insulin. Studiepopulasjonen var en del av «Diabetes Prevention Program», en studie hvor halvparten får livstilintervensjon og resterende placebo, og selv om det ble justert for behandlingseffekt, er det allikevel mulig at det har hatt en betydning for resultatet. (63)

Tre av de prospektive studiene i oppgaven målte PFAS-konsentrasjoner hos gravide, for så å undersøke effekter på fødselsvekt eller helseeffekter de første leveårene hos deres barn. For to av studiene ble det rapportert om assosiasjon mellom PFOA og redusert fødselsvekt eller overvekt/fedme hos barnet ved femårsalder. (66, 70) Moren sine konsentrasjoner av miljøgifter kan si oss noe om i hvilken grad barnet eksponeres, siden morens nivåer av PFASer under svangerskap er vist å korrelere med PFAS-konsentrasjoner målt i navlestrengsblod til barna. (81) Men slik som Mora et al. (69) diskuterer, så vet man derimot ikke i hvilken grad hver av de ulike PFASer i morens blod som faktisk overføres til barnet. Domazet et al. (65) tar for seg niåringer og følger de frem til 21-årsalderen, en tid da kroppen er i stor endring. Studien diskuterer rundt at prenatal- og perinatal-perioden har særlig fått fokus som sårbare tidspunkt for eksponering, men at denne aldersgruppen hvor barn er i vekst og modning, også kan være en sårbar tid å bli eksponert for hormonforstyrrende stoffer med tanke på utvikling av fedme. I tillegg nevner de at lang halveringstid for PFASer, gjør at konsentrasjoner målt i barndom åpner opp for muligheten til å kunne anslå mengde eksponering under svangerskapet og tiden etter fødselen. Studien rapporterte om at PFOS-konsentrasjon som niåring er assosiert med økt midjeomkrets som 21 år, men at PFOA målt som 21-åring er negativt assosiert med midjeomkrets som 21 år.

En svakhet for forskningen på om det er en årsakssammenheng mellom POPer og metabolske sykdommer, er at flere av studiene ikke er prospektive, og at de som er prospektive har få antall deltagere. (10) Lauritsen et al. (70) mener det er en styrke for sin prospektive studie at antall deltagere er 412, noe Starling et al. (66) også rapporterer med sine 628 deltagere, mens Cardenas et al. (63) omtaler sin studiepopulasjon på 957 som moderat. Domazet et al. (65) har den minste populasjonen med 369 personer, og omtaler den selv som «begrenset», og at større populasjoner trengs for å kunne bekrefte funnene. Oversiktsartikkelen Rappazzo et al. (75), tar for seg flere epidemiologiske studier med variasjon i antall deltagere og studiedesign, men som har det til felles at de undersøker om PFASer påvirker helsen til barn, inkludert kardiometabolske effekter; faktorer relatert til glukoseregulering og metabolsk syndrom, fedme og overvekt, og dyslipidemi. Det ble funnet sterkest evidens for en positiv assosiasjon mellom PFASer og dyslipidemi, økt totalkolesterol og LDL. Braun et al. (82) gjennomgår litteratur som undersøker om eksponering tidlig i livet har betydning for fedme i barndom, og rapporterer om en assosiasjon mellom prenatal eksponering til PFASer og økt

fedme/overvekt hos barn, inkludert økt risiko for fedme og kardiometabolske sykdommer senere i barndom på grunn av at PFASer er assosiert med redusert fødselsvekt.

Et av punktene til Hill i vurdering av kausalitet var tilstedeværelsen av en biologisk gradient. (12) En svakhet ved flere studier som evaluerer om assosiasjon mellom POPer og diabetes, er at de ikke undersøker om det er dose-respons-forhold. (9) For dette litteraturstudiet var det to studier som rapporterte om dette. Den nestede kasus-kontrollstudien rapporterte om et doserespons-forhold mellom PFOS og insident diabetes type 2 blant amerikanske kvinnelige helsearbeidere, (68) og den amerikanske tversnittstudien fra NHANES rapporterte om et slikt forhold mellom PFOA og diabetes. (61) Derimot, den prenatale studien Lauritzen et al. (70) rapporterte om et «ikke-monotont-dose-respons»-forhold (omvendt U-formet dose-respons-kurve) mellom morens konsentrasjon av PFOS under svangerskapet og til barnets BMI som fem år, og studien diskuterer rundt om dette kan komme av at PFASer er hormonforstyrrende stoffer.

Vandenberg et al. (83) viser at slike «ikke-monotone-dose-respons»-forhold (ikke-lineære forhold mellom dose og effekt), er vanlig forekommende i studier på hormonforstyrrende stoffer og naturlige hormoner. Flere mekanismer kan forklare disse dose-respons-kurvene, slik som at EDCer er cytotoxisk på høye doser, eller at EDCer binder en spesifikk reseptor/ reseptorklasse på lave doser (reseptorselektivitet), mens de på høye doser kan binde til flere andre typer reseptorer. Inaktivering av reseptorer (desensitivisering) som følge av kontinuerlig eller gjentatt eksponering til en EDC er en tredje forklaring, eller at det skjer en nedregulering av reseptorer etter hvert som nivåene av EDCer øker. Andre mekanismer som er nevnt er endokrine negative «feedback loops», vevs- og celledisposisjon for reseptorer og kofaktorer, og konkurranse om reseptoren mellom det endogene hormonet og EDC. Vandenberg et al. (83) konkluderer med at når slike «ikke-monotone-dose-respons»-kurver observeres, kan ikke effekter på lave doser forutsies av effektene som er observert på høyere doser. Betydningen av slike dose-respons-kurver, kan tolkes dit hen at uheldige effekter vil være større på små doser i forhold til høyere doser, som vil kunne få betydning for den generelle befolkningen i forhold til høyriskopopulasjoner. Hvis man da skal undersøke risikoen av eksponering på lave doser, vil det å skulle finne en referansegruppe med svært lave miljøgiftkonsentrasjoner bli et problem. (10)

Forvirring mellom tilsynelatende kausale variabler

At alle eller deler av effekten til en variabel skjer på grunn av en annen variabel, såkalt konfundering, kan gi forvirring for assosiasjonen mellom to tilsynelatende kausale variabler. Dette kan gå begge veier; at en tredje variabel lager en assosiasjon som ikke eksisterer mellom to variabler, eller at en tredje variabel usynliggjør eller reduserer en sann assosiasjon. Alder, fysisk aktivitet og røyk kan alle være en positiv konfunder for diabetes type 2, fordi de er assosiert med risikoen for å utvikle diabetes. (13) Den observerte assosiasjonen mellom miljøgifter og diabetes/fedme kan derfor komme av konfundering, slik at den reelle

kausale faktoren ikke trenger være miljøgifter, selv om epidemiologiske studier kan vise en sammenheng. (10) Epidemiologiske studier kan derimot justere for kovariabler i statistiske analyser, slik at sjansen for konfundering reduseres, noe som vil styrke en observert assosiasjon mellom PFASer og diabetes type 2/fedme. (13) Dette er noe flere av de epidemiologiske studiene i denne litteraturstudien i ulik grad har gjort, slik som den prenatale kohortstudien Lauritzen et al. (70) justerte for blant annet røyk, BMI før svangerskapet og vektoppgang ved svangerskapet. Mens andre konfunderende faktorer enn alder ble ikke tatt hensyn til ved tversnittstudien Yang et al. (64) som fant assosiasjon mellom PFNA og metabolsk syndrom. He et al. (61) har justert for flere kovariabler som kan ha effekt på utviklingen av diabetes, men en konfunderende faktor de ikke justerte for var filtrasjonsrate i nyrene. Noe de diskuterer rundt som en svakhet, da PFASer kan elimineres via nyrene og pasienter med diabetes kan ha redusert filtrasjonsrate, og dermed få økte konsentrasjoner av miljøgiften i blodet. Cardenas et al. (63) rapporterte om at PFOS og PFOA er assosiert med HbA1c, fastende blodglukose og fastende insulin, blant en populasjon med økt risiko for diabetes. Studien justerte heller ikke for glomerulær filtrasjonsrate (GFR), og de diskuterer også at siden GFR er vist å være assosiert med progresjon og risiko til diabetes, i tillegg til å være assosiert med metabolsk dysfunksjon, så kan GFR ha konfundert assosiasjonen mellom de forhøyete blodprøvene og konsentrasjonene av PFASene.

En tredje variabel kan endre retningen eller styrken på assosiasjonen mellom to variabler, såkalt effektmodifisering. (13) Lauritzen et al. (70) undersøkte om morens PFAS-nivåer var assosiert med BMI hos barna ved femårsalderen, der studiepopulasjonen var fra Norge og Sverige. Analysen ble gjort med og uten stratifisering for land. Det viste seg at den observert assosiasjonen mellom PFOS og økt BMI hos norske og svenske barn sammen, ble enda sterkere for norske barn alene, og ikke signifikant for de svenske barna alene; det var en signifikant forskjell mellom landene. Tversnittstudien He et al. (61) som rapporterte om positiv assosiasjon mellom total kolesterol og PFOA blant kvinner og menn sammen, stratifiserte for alder og kjønn i analysen, og det viste seg at assosiasjonen ble sterkest for menn 40-60 år, og damer 40-50 år og 60-70 år, og ikke signifikant for de andre aldersgruppene. Disse to studiene viste at PFASer kan være assosiert med forskjellige effekter blant forskjellige subgrupper.

Magliano et al. (10) trekker frem viktigheten av å justere for livstilfaktorer, og da spesielt diett. Dietten kan være en viktig potensiell konfunder, da det kan være en viktig eksponeringskilde til PFASer. (75) Domazet et al. (65) diskuterer rundt det faktum at sjømat er antatt å inneholde betydelige mengder PFASer, og i sine analyser justerte de ikke for diett. Lauritzen et al. (70) som viste en signifikant forskjell for assosiasjonen mellom BMI og PFOS i Norge i forhold til i Sverige, justerte for morens inntak av fisk blant de norske deltagerne, men det endret allikevel ikke resultatet. Studien diskuterer rundt at de ikke tok hensyn til sosioøkonomiske og livsstilsforskjeller mellom de som spiste mye sjømat i Norge i forhold til de i

nabolandet. Domazet et al. (65) nevner nemlig at økt inntak av sjømat er antatt å være høyere hos de med høyere sosioøkonomisk status i forhold til de med lavere sosioøkonomisk status. Selv justerte de for inntekt til barnas mødre. Videre argumenterer studien for at høyt inntak av gatekjøkkenmat («junk food») også kan være en konfunder til assosiasjoner mellom PFASer og metabolske sykdommer, så vel som en viktig eksponeringskilde til PFASer. Dette fordi PFASer i stor grad er brukt i innpakningen til slik mat, og dermed kan forurense maten.

Fettmasse er en konfunderende faktor for POPer, siden fettløselige miljøgifter lagres i nettopp fettvev. Diett med høyt inntak av fettinnholdig mat kan derfor bidra til en assosiasjon som ikke eksisterer, siden høyfettdiett er relatert til fedme, men også fordi fettinnholdig mat er en stor eksponeringskilde til POPer. Derimot er dette med fedme som konfunderende variabel omdiskutert, da fettvev på den annen side kan virke som et lager for fettløselige miljøgifter og redusere mengden som sirkulerer i blodet – slikt sett vil slanking kunne gi økte sirkulerende nivåer i blodet. (7, 10) Men det er rapportert at økte konsentrasjoner av POPer og overvekt sammen gir økt risiko for diabetes (synergisk effekt), i forhold til høye konsentrasjoner av POPer og normal kroppsvekt, eller i forhold til overvekt og lavere konsentrasjoner av POPer. (84) Men som nevnt innledningsvis, så er PFASer ulik andre POPer, ved at de er fettavstøtende og opphopes ikke i fettvev, men binder istedenfor til blant annet proteiner i serum og lever. (24)

Alder, rase/etnisitet og kjønn er noen viktige faktorer som burde tas hensyn til som potensielle modifierende variabler eller potensielle konfunderende variabler når studier undersøker om det er assosiasjon mellom POPer og metabolske sykdommer. (7) Koshy et al. (67) understreker at kasusgruppen i studien ikke bare ble påvirket av PFASer den dagen katastrofen på Verdens handelssenter i New York intr traff, men derimot at befolkningen i området ble eksponert for et vidt spekter av kjemikalier. Ingen av de epidemiologiske studiene i denne oppgaven har tatt hensyn til andre miljøgifter som mulige konfundere, og flere studier diskuterer rundt dette som en svakhet for resultatet, (67, 69) da andre miljøgifter som ikke ble målt kan være assosiert med diabetes. (68) Når mennesker eksponeres samtidig til flere typer miljøgifter, kan det da være slik at miljøgifter har en konfundereffekt på hverandre, og kan andre miljøgifter styrke assosiasjonen PFASer har til diabetes og fedme, eller svekker de den? Når man undersøker om det er kausalitet mellom PFASer og metabolske sykdommer, burde andre miljøgifter tas hensyn til, som potensielle effektmodifierende variabler eller konfunderende variabler. (7)

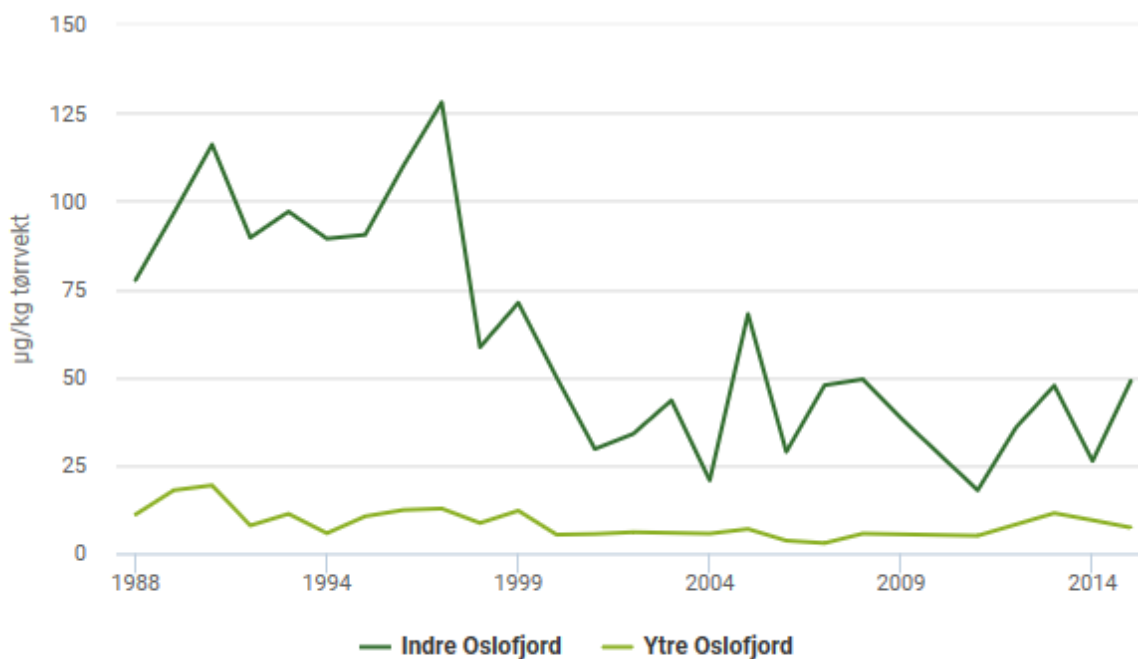
Assosiasjon mellom andre miljøgifter til diabetes type 2 og fedme?

Et av Hills kriterier er analogi; hvis enkelte legemidler under svangerskapet er assosiert med fosterskade, så kan man forvente at andre legemidler under svangerskapet i mer eller mindre grad kan være uheldige for fosteret. (12) Slik som PFASer, er flere andre miljøgifter klassifisert som hormonforstyrrende stoffer, såkalte EDCer, og flere av dem er assosiert med å være metabolsk forstyrrende. Enkelte er nevnt

innledningsvis under hormonforstyrrende stoffer, og Casals-Casas et al. (3) rapporterer om flere; Organokloriner (for eksempel dibutyl phthalate (DDT)) som finnes i plantevernmidler, er påvist å kunne reagere med østrogenreseptor-alfa og androgenreseptorer. Dioksiner (for eksempel PCB) og organotinforbindelser, to miljøgifter hvor mat utgjør en stor eksponeringskilde, er begge vist å reagere med kjernereseptorer som blant annet PPAR γ . I tillegg til bromerte flammehemmere (for eksempel polybrominert difenyl eter (PBDE) og polybromerte bifenyler (PBB)), som har til hensikt å redusere brannfarligheten til produkter, er vist å interagere med østrogenreseptorer og tyreoidhormonreseptorer. (3)

En tversnittstudie basert på NHANES mellom 1999-2002, viste at organokloriner og dioksin-lignende PCBer er signifikant assosiert med metabolsk syndrom, og at organokloriner er særlig assosiert med forhøyete triglyserider og fastende blodglukose, og PCB er assosiert med midjeomkrets og fastende blodglukose. (85) En kasus-kontrollstudie gjennomført mellom 2011-2011 i Kina, viste at en undergruppe av PBDE er assosiert med økt risikoen for prevalent diabetes. (86) Oversiktsartikkelen Taylor et al. (7) undersøkte om det var evidens for en sammenheng mellom diabetes type 2 og POPer, og de fant evidens for en positiv assosiasjon mellom enkelte miljøgifter; flere organokloriner blant annet DDT, og for enkelte PCBer og dioksiner/dioksin-lignende kjemikalier. Derimot ble det ikke funnet noen positiv assosiasjon for PBDEer eller PBBer. Forekomsten av diabetes i Asia har som i resten av verden økt raskt de siste tiårene, og en oversiktsartikkel rapporterer som positiv assosiasjon mellom diabetes og POPer i denne verdensdelen; polyklorerte dibenso-p-dioksiner (PCDD), PCBer og flere organokloriner som blant annet DDT. (9) Magliano et al. (10), rapporterer om økt risiko for diabetes til PCBer/dioksiner blant jobbrelevante høyrisiko populasjoner, og oversiktsartikkelen angir assosiasjon mellom PCB og diabetes blant ikke-jobbrelevante høyrisikopopulasjoner.

PCB er en «gammel miljøgift» som i størst grad ble brukt for 60-50 år siden, og over ni tiendedeler av PCB brukes ikke lengre. Miljøgiften er assosiert med flere uheldige helseeffekter, deriblant negativ innvirkning på læringsevne, reproduksjon og nervesystem, samt svekket immunsystem. Miljøgiften er svært fettløselig og tungt nedbrytbar, og eksponering er relevant i dag siden stoffet fortsatt kan lekke ut fra eldre produkter og avfall som ikke er godt nok håndtert, eller fra grunn som har vært utsatt for PCB. **Figur 6** viser nivåene av PCB i blåskjell i Oslofjorden, som gjenspeiler hvordan nivåene av PCB i Norsk miljø ikke lengre øker, men holder seg jevne og er på tur ned. (87) Bromerte flammehemmere regnes som en av «de nye miljøgiftene» slik som PFASer, og forbindelsene er særlig å finne i elektroniske og elektriske produkter. De er assosiert med uheldige helseeffekter, herunder skadelig effekt på foster, kreft og redusert fruktbarhet. Det var særlig en stor økning i bruken av disse fra midten av 90-tallet, men bruken har blitt redusert i løpet av de siste ti årene i Norge. Strengere regulering samt forbud for enkelte bromerte flammehemmere, har gjort at andre stoffer nå brukes som erstatning; stoffer man vet mindre om. (88)



Kilde: Miljødirektoratet Lisens: [Norsk Lisens for Offentlige Data \(NL0D\)](#)

Figur 6: Figuren viser nivåene av polyklorerte bifenyler (PCB) i blåskjell i Oslofjorden, som gjenspeiler hvordan nivåene av PCB i Norge ikke lenger øker, men holder seg jevne og er på tur ned. Kilde: (87)

Som nevnt tidligere, så rapporterte Nost et al. (22) om reduserte nivåer av de mest detekterbare PFASer i serum (PFOS og PFOA) hos norske menn mellom 2001 og 2007, etter en voldsom økning fra 1979. Derimot var det vist en økning og ingen reduksjon av andre PFASer, som PFNA, PFDA og PFHxS, mellom 1979 og 2007. Poothong et al. (23) rapporterte om ingen endring i nivåene av PFOA hos norske innbyggere mellom 2007/2008 til 2013/2014, men en økning i PFHxS, PFDA og PFNA. Det er den siste tiden blitt økt brukt av andre PFASer enn PFOA og PFOS, og særlig kortkjedete PFASer som man har mindre kunnskap om, har erstattet flere av de langkjedete. (11, 25) De fleste studiene gjort *in vitro* og *in vivo* rapporterer om effekter etter eksponering til PFOS og PFOA. Det er allikevel ikke utenkelig at andre PFASer, enn de hittil mest brukte og målbare i mennesker og miljø, også kan assosieres med diabetes type 2 og fedme, hvis man tar i betraktning Hill sitt kriterie om analoge forhold. Samtidig som man tar i betraktning hva studier på dyr og celler viser av effekter for andre PFASer enn PFOA og PFOS, og hva andre PFASer er assosiert med hos mennesker.

Mikstureffekt av miljøgifter

Å oppdage den effektive dosen som et kjemikal kan gi effekt ved, er et mål for forskning. Vi omgir oss derimot med mange kjemikalier, og selv om konsentrasjonen av et enkelt kjemikalie alene ikke nødvendigvis gir effekt, er det ikke utenkelig at kjemikalier i kombinasjon kan gi uheldige helseeffekter.

Flere av miljøgiftene klassifiseres som hormonforstyrrende stoffer og er vist å virke via lignende reseptorer, og det er foreslått at slike kjemikalier sammen kan ha en virkning som er lik summen av virkningene til hvert enkelt stoff, såkalt additiv effekt. (3)

De fleste studier evaluerer miljøgiftene en og en, slik at få studier har sett på mikstureffekten av dem. (82) Den prospektive kohortstudien Lind et al. (89) undersøkte risikoen for metabolsk syndrom blant en mikstur av 30 kjemikalier. Av alle miljøgiftene som ble undersøkt, med tanke på om assosiasjon versus insident metabolsk syndrom, var relativ viktighet for PCB126, PCB170, hexachlorobenzene (HCB) og PCB118 henholdsvis 7.77, 4.1, 2.1 og 4. Disse fire viste alle å være assosiert med insident metabolsk syndrom, på en additiv måte, og det var ikke funnet noen synergisk effekt. Den PFASen med høyest relativ viktighet var PFHxS med 1,1, og til sammenligning var relativ viktighet av serum-triglyserider og midjeomkrets på henholdsvis 20.1 og 10.8. Mailloux et al. (90) eksponerte rotter for en mikstur av 22 miljøgifter som er funnet i blodet til en befolkning i arktiske Canada. De rapporterte om tap av betaceller, endret morfologi til pankreasøyene og reduserte nivåer av serum- og pankreasinsulin, samt hemmet insulinfrigjøring. Det ble også rapportert at denne samme miksturen av miljøgifter ga hepatosteatose i rotter. (91)

Uten å ta hensyn til miksturen av miljøgifter, kan man ikke bestemme om de gir synergiske eller kumulative helseeffekter, og heller ikke om de har konfunderende effekt på hverandre. (82) Rappazzo et al. (75) påpeker; PFASer er også en mikstur av flere stoffer, men få studier undersøker de som det.

Veien videre

Hill diskuterte rundt det faktum at det kan være vanskelig å trekke konklusjoner om en årsakssammenheng hvis spesifisitet ikke eksisterer. Røyk gir lungekreft, og det er en svært sterk assosiasjon mellom disse. Men røyk er også en risikofaktor for andre typer kreft. (12) PFASer er assosiert med andre sykdommer, og diabetes type 2 og metabolsk syndrom er komplekse og multifaktorielle metabolske sykdommer. Miljøgifter er bare en av disse multifaktorielle faktorene, som muligens kan bidra. (3)

Hill diskuterte også rundt kriteriet koherens ved å vise til årsakssammenhengen mellom røyk og lungekreft; den økte forekomsten av lungekreft og røyk skjedde på samme tid, samtidig som det var en tydelig forskjell i forekomsten av lungekreft mellom menn som røykte og damer som ikke røykte. (12) Det har vært en drastisk økning i kjemikalier i miljøet vårt på samme tid som fedme og diabetes har økt i forekomst. Epidemiologiske studier har gitt assosiasjoner til at miljøgifter er en mulig årsak, men kan andre forklaringer ligge bak, slik som at personer med diabetes har redusert evne for å metabolisere eller utskille miljøgifter? (5) Er det andre, foreløpige ukjente, faktorer som kan spille en rolle for den økte forekomsten av diabetes og fedme de siste tiårene?

Veien videre for å identifisere om det er en kausal sammenheng mellom PFASer og metabolsk syndrom/ diabetes type 2, bør inneholde flere gode prospektive studier, basert på store befolkningsgrupper, som følges over lengre tid, hvor man tar hensyn til kjente konfunderer og undersøker om andre, mer ukjente faktorer kan ha konfunderende effekt. Samtidig som man prøver å forstå hvordan andre faktorer kan ha modifierende effekt, slik som andre miljøgifter, kjønn, fedme, alder ved eksponering og varighet på eksponeringen. (7) Videre forskning på dose-responskurver er aktuelt, samt at eksponeringen og utfallene i epidemiologiske studier måles på gode og tilfredsstillende måter, deriblant å skille mellom diabetes type 1 og type 2. (10) Mikstureffekten av miljøgifter bør få økt fokus, (3) og det bør gjøres videre forskning på celler og dyr for å identifisere bakenforliggende mekanismer, i tillegg til å identifisere andre potensielle kjemikalier som kan være assosiert med metabolsk syndrom og fedme. (30)

Om det er tilfelle at miljøgifter gir økt risiko for å utvikle diabetes/fedme så vet man ikke i hvor stor grad miljøgifter kan påvirke til utfallene. Men det man vet, er at forekomsten av diabetes/fedme er svært høy og at miljøgifter er i stor bruk over store deler av verden. Så hvis det er slik at den sanne styrken på assosiasjonen mellom miljøgifter og diabetes/fedme er liten, men reell blant sårbare individer, så kan det globalt sett få en viktig betydning for folkehelsen. (10) Sent på 90-tallet ble det gjort de første målingene som viste at vannprøver fra brannskum-forurensede områder inneholdt PFOS, men på tross av disse tidlige varslene, er det allikevel flere plasser med forurensning som fortsatt ikke er klarlagt den dag i dag. (92) Da forurensning av PFASer i liten grad er reversibelt og opprydding kostbart, foreslår Cousins et al. (92), at føre var-prinsippet burde ligge til grunn med tanke på å beskytte blant annet drikkevannet vårt fra forurensning. Føre var prinsippet handler om hvordan vitenskapelig usikkerhet skal anvendes. Det innebærer at man skal hindre skade på miljøet og naturen når avgjørelser tas, og er et argument for å sette i gang tiltak på tross av at man mangler kunnskap. (93) Observasjonsstudier gir assosiasjoner mellom flere miljøgifter og metabolske sykdommer, studier *in vivo* og *in vitro* viser uheldige effekter av flere kjemikalier, og mikstureffekten vet man lite om. Derfor burde muligens veien videre inkludere føre var-prinsippet, når det gjelder bruk og regulering av kjemikalier vi omgir oss med. (30) Samtidig som man fortsetter å overvåke verdier av miljøgifter i vann, støv og luft, samt å måle konsentrasjonene av miljøgiftene og deres metabolitter i blod og vev til mennesker og dyr. (3)

Svakheter og styrker ved oppgaven

Denne litteraturstudien har flere svakheter. Begreper som ikke var inkludert i litteratursøket, kunne ha gitt mangel på aktuelle og viktige artikler, slik som at enkelte PFASer ikke var inkludert. Antall prospektive studier som til slutt ble inkludert er lavt for å kunne snakke om en kausal sammenheng mellom PFASer og fedme og diabetes type 2. Det har vært en subjektiv utvelgelse av informasjon fra artikler, etter hva jeg selv har ment var mest relevant. Dette kan ha bidratt til skjevhet i hva som endte opp som de mest konsistente

funnene. For enkelte celle- og dyrestudier oppga de mange resultater, slik som svært mange oppregulerte eller nedregulerte gen og diskuterte rundt flere signaleringsveier som var påvirket. Andre artikler oppga bare et fåtall resultater, slik som et begrenset antall oppregulerte gen eller proteiner. For de studiene med særlige mange funn, har det vært et mål å få med det viktigste av resultater med tanke på min problemstilling, og flere ganger har flere artikler blitt lest igjennom i etterkant av den første gjennomlesningen, for å sikre at rett og relevant informasjon er blitt hentet ut. Allikevel kan relevant informasjon ha uteblitt.

Å definere hva som er et positivt funn i forhold til et negativt, har til tider vært problematisk, med tanke på at enkelte signaleringsveier og diverse gener/proteiner kan påvirkes i begge retninger, eller det er uvisst hvilken eksakt effekt som gis ved aktivering av en signaleringsvei eller et gen/protein. Enkelte funn hadde kanskje derfor passet både under negative og positive funn, og enkelte funn kan nok diskuteres om de er plassert rett. Det tas forbehold om at antall eksperiment *in vitro* ikke alltid er eksakt i tabellene, da det enkelte ganger har vært vanskelig å tolke hvor mange eksperiment som faktisk er gjort i studiene. Hvor presis hver studie har vært med å oppgi metode har variert. For flere eksperimenter har metoder vært svært grundig beskrevet i studiene, og da å skulle velge et kort og presist navn for metoden som er brukt, har til tider vært vanskelig. Dette har særlig vært et problem siden undertegnede ikke er kjent med flere av disse metodene, og det tas derfor forbehold om at metodenavn kan variere.

Det har vært vanskelig å oppsummere resultater fra dyrestudiene og cellestudiene i små tabeller, siden det har vært mye relevant informasjon fra studiene. Dose-respons-forhold for effekter sett i dyre- og cellestudier har vært et mål å få med i tabellene, men nå i ettertid ser jeg at «ikke-monotone-dose-respons»-kurver også kunne vært aktuelt å ha notert seg – selv om dette ikke ble nevnt av Hill, da han skrev sin liste med ni kriterier for vurdering av kausalitet i 1965.

En styrke for oppgaven er en klart formulert problemstilling. Det ble også gjennomført et systematisk litteratursøk for å komme frem til artikler utgitt de siste fem årene som var relevante for oppgaven, samt oppdateringer fra litteratursøket på e-post i ettertid. Det å gjøre et forsøk på å besvare problemstillingen ved å gjennomgå studier gjort på både mennesker, dyr og celler, er også en styrke i forhold til en eller to av de alene. Det har også vært et ønske å gi god og forståelig informasjon innledningsvis om miljøgiftstatus i dag, om PFASer og om hormonforstyrrende stoffer, slik at det kan ha bidratt til å forstå valget av problemstilling, og gi bedre forståelse av resultatene.

Konklusjon

De siste tiårene har fedme og diabetes økt voldsomt i forekomst, og fedme er assosiert til flere dødsfall på verdensbasis enn undervekt. Livsstilen vår har på samme tid bidratt til en drastisk økning i miljø- og helsefarlige kjemikalier, som vi er helt avhengig av. Derfor har forskere stilt seg spørsmål om det er en sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter.

Epidemiologiske studier viser tvetydige funn, både når det gjelder fedme og diabetes. I dette litteraturstudiet rapporterte to tversnittstudier og en kasus-kontrollstudie at miljøgift-gruppen PFASer er assosiert til diabetes, mens en kohortstudie fant ingen assosiasjon. To kohortstudier melder om økt risiko for overvekt/fedme eller økt midjemål, mens en tredje rapporterer om økt risiko for lav fødselsvekt, som er assosiert med metabolsk sykdom senere i livet. Studier på dyr viser at PFASer gir effekter som er uheldige. Effekter som økt levervekt, fettakkumulering i lever, og redusert fødselsvekt og diabetes som voksen for avkommet til dyr eksponert under svangerskapet. Flere studier i mennesker og i dyr taler for at eksposisjon til PFASer kan bidra til dyslipidemi, metabolsk syndrom og fedme/diabetes type 2 utvikling.

Sammenligning av funn mellom celle- og dyrestudier, viser at de mest konsistente og doseavhengige-responsene etter eksponering til PFASer, er økt lipid- og triglyseridinnhold i celler/vev, økt ekspresjon av kjernereseptorer viktig for lipidmetabolisme og energihomeostase, og oppregulering av flere gener som er viktig for lipidmetabolismen. Dyr- og cellestudier beskriver plausible biologiske mekanismer hvor PFASer påvirker flere aspekter av lipidmetabolismen og lipidopptak i leverceller, samt stimulerer til adipogenese. Andre plausible forklaringer innebærer endret signalering i glukosemetabolismen og epigenetiske forandringer hos barnet under svangerskapet.

Andre miljøgifter er assosiert med fedme og diabetes, og andre miljøgifter er vist å være hormonforstyrrende og å kunne reagere med lignende kjernereseptorer som PFASer. Dessverre finnes det foreløpig få studier som ser på mikstureffekten av miljøgifter. Metabolsk syndrom og diabetes er multifaktorielle sykdommer, og miljøgifter er bare en av disse mulige faktorene som kanskje kan spille en rolle. PFASer er assosiert med sykdom og uheldige helseeffekter, men fortsatt er det bare PFOS og PFOA som er forbudt i Norge. Denne litteraturstudien bidrar til å sette fokus på uheldige helseeffekter av PFASer, men også miljøgifter generelt; miljøgifter som vi omgir oss med til daglig, via mat, drikke, støv og luft, og som mødre ubevist overfører til sine barn. Mange er nok ikke klar over i hvor stor grad de faktisk eksponeres, og aller minst er de klar over hva en slik eksponering kan føre til i studier på dyr og celler, samt hva det er assosiert med hos mennesker.

Mon tro hva Austin Bradford Hill ville svart, hvis noen hadde spurt om det var en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter? Både cellestudier, dyrestudier og studier i mennesker viser

flere konsistente funn som taler for mulig kausal assosiasjon mellom PFAS-eksponering og utvikling av metabolsk syndrom, diabetes type 2 og fedme. Man kan kanskje si at det mest konsistente funnet blant alle studiene (celle-, dyre-, og menneskestudiene) er forandringer i lipidmetabolismen. Det er kanskje den eneste assosiasjonen som tilfredsstillende flere av kausalitetskriteriene. Men, det finnes ikke nok forskningsdata til å kunne påstå at det er en sikker kausal assosiasjon. Det er behov for flere langsgående, store og gode prospektive studier, hvor konfunderende og modifierende variabler undersøkes og tas hensyn til, inkludert andre miljøgifter og mikstureffekten av miljøgifter sammen. Kanskje ville Hill vært enig i, at føre var-prinsippet hadde være lurt å følge, mens forskningen fortsetter.

Tabeller 1: Dyrestudier

For å svare på problemstillingen «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter», ble flere studier på dyr som er eksponert til per- og polyfluorerte alkylstoffer (PFASer) gjennomgått. Funnene fra dem presenteres i tabeller 1.1 - 1.7:

- Tabell 1.1: Mus eksponert til kun en dose av PFOA
- Tabell 1.2: Mus eksponert til flere doser av PFOA
- Tabell 1.3: Mus eksponert til PFOS
- Tabell 1.4: Studier på mus som bruker to eller flere ulike PFASer
- Tabell 1.5: Eksponerte rotter og katter
- Tabell 1.6: Mus eksponert under svangerskap
- Tabell 1.7: Mus og rotter eksponert under svangerskap og under ammeperioden

Type dyr oppgis i første kolonne, mens antall dyr inkludert per studie nevnes i andre. For studier som ikke nevner totalt antall dyr, oppgis antall dyr per enkeltforsøk, og da som største og minste antall med hakeparentes (for eksempel [4-6]). Noen studier angir ikke antall dyr totalt i studien eller per forsøk, og det oppgis med IO (ikke oppgitt). Positive funn er funn som taler for problemstillingen, mens negative funn taler imot, slik at økt nivå av blodglukose vil tale for diabetes type 2 og være et positivt funn. Bare signifikante funn (p-verdi <0,05) er tatt med i tabellen, med mindre funnet er merket med *, eller annet står beskrevet. Type PFAS oppgis i egen kolonne, og for studiene som gjør forsøk med flere PFASer, vil type PFAS stå ved funnet det gjelder for. Om studiene har brukt ulike doseringer av PFAS-eksponeringen oppgis deretter i nest siste kolonne. Doseavhengige (DA) effekter er markert med rødt. Referanse nevnes med fotnote til sist.

Proteinekspresjon (PE) som er brukt i tabellen innebærer i denne sammenhengen påvisning av proteiner i vev/celler, ved bruk av immunohistokjemiske undersøkelser (som immunostaining), immunofluorescens eller western blotting. Genekspressjon (GE) er brukt om påvisning av økt budbringer-ribonukleinsyre (mRNA) for gen, slik som ved metodene reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) eller quantitative-PCR (qPCR). Hovedregelen for hvordan gen og proteiner oppgis i tabellene, er at symbolene for gen vil markeres med kursiv, mens symbolene for proteiner vil være uten kursiv.

For å kunne svare på en mest mulig måte, er flere engelske navn på signaleringsveier, kjernereseptorer, gen, proteiner, og enkelte PFASer forblitt på engelsk. Ordforklaringer ligger nedenfor hver tabell, men navn på de fleste signaleringsveier, kjernereseptorer, gen og proteiner oppgis i hovedsak i tabellene med det fulle navnet og forkortelsen i parentes bak, for hver ny rad i hver tabell. Det vil si at møter man en forkortelse som er brukt uten at det hele navnet står sammen med den, skal forkortelsen være forklart tidligere i samme rad, selv om det kan være i en annen kolonne (hvis ikke vil den stå i ordforklaringen under tabellen). Forkortelsene til navnene

er tatt med i parentes bak, da det kan være lettere å gjenkjenne navn med forkortelsen heller enn det fulle navnet alene, og fordi noen begrep er mer kjent på forkortelsen enn det fulle navne.

Tabell 1.1: Mus eksponert til kun en dose av PFOA

Dyr	An tall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike Doser	Ref.
Mus	IO	<ul style="list-style-type: none"> •Histopatologiske forandringer i lever med inflammasjonsceller, og cytoplasmatiske vesikler som kan tyde på økt lipidinnhold. •PE lever: ↑fatty acid translocase (FAS)-positive celler. •PE pankreas: ↑insulin- og ↓glukagonpositive celler. •Foreslås: Akutt eksponering til PFOA påvirker lever og viktige hormoner i pankreas. 	<ul style="list-style-type: none"> •Pankreas histopatologisk: -- 	PFOA	Nei	(45)
Mus	[3-10]	<ul style="list-style-type: none"> •↑ Levervekt. ↓Glukose i lever etter faste. •↓Glukosestigning ved pyruvat toleranse-test. •Serum: Oppdaget 47 «differentially expressed proteins» relatert til diabetes. •PE i lever: Påvirket fosforylering og ekspresjon til flere substrater i signaleringsveien phosphatidylinositol 3-kinase-serine/threonine protein kinase (PI3K-AKT), som ↑glycogen synthase kinase 3-beta (GSK3β) og ↓insulin receptor β (IRβ). 	<ul style="list-style-type: none"> •↓Kroppsvekt. ↓Vekt av hvitt- og brunt fettvev. •↑Glukosetoleranse og ↑insulinsensitivitet ved glukosetoleranse-test og insulin toleranse-test. •PE lever: ↑fosforylert protein kinase B (p-AKT), ↑phosphoinositide-dependent kinase 1 (PDK1), og ↓ phosphatase and tensin homologue (PTEN). Lever og muskel var mer sensitiv til insulin, mens hvitt fettvev var mindre sensitiv. •Foreslås: PFOA gir hypersensitivitet til insulin, og indirekte hemmer glukoneogenesisen. 	PFOA	Nei	(40)
Mus	[3-8]	<ul style="list-style-type: none"> •↑s- ALAT, ↑s-ALP. •↑Levervekt. •Histopatologisk funn i lever med hepatocytthypertrofi og degenerasjon, og inflammasjonsinfiltrat. •↑GE i lever for betaoksidasjon, fettsyretransport og triglyseridkatabolisme, blant annet: enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase (<i>Ehhadh</i>), peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (<i>Acox1</i>), acyl-coa-thioesterases 2 (<i>Acot 2</i>), fatty acid binding protein 3 (<i>Fabp3</i>), carnitine O-octanoyltransferase (<i>Crot</i>), og lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>). •↑GE i lever av proinflammatoriske gener og↑drugmetabolisme-gener som <i>Cyp2b10</i> og NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (<i>Nqo1</i>). •Levermetabolitter: ↓Langkjedete fettsyrer og acylkarnitiner. •Foreslås: PFOA gir inflammasjon og forstyrret fettsyre- og glukosemetabolisme i leveren. •Høyfett-diett forverrer de hepatotoksiske effektene, ved å gi ytterlige ↑levervekt og ↑ s-ALAT. Samt ↑s-ASAT og ↑histopatologiske funn med mer inflammasjon og lipidakkumulering. 	<ul style="list-style-type: none"> •Plasma total-bilirubin og frie fettsyrer: -- •↓Kroppsvekt. ↓Vekt av hvitt fettvev. •GE lever: ↓Gener involvert i alle signaleringsveiene for glukosemetabolismen, inkludert gener i glykolysen, glukoneogenesisen, sitronsyresyklus, og pentose-fosfatveien. •Levermetabolitter: ↓Flere glukosemetabolitter, blant annet glukose. 	PFOA	Nei	(37)

Ordforklaringer: ALAT, alanin aminotransferase; ALP, alkaliske fosfataser; ASAT, aspartat aminotransferase; Cyp, cytokrom; GE, genekspressjon; IO, ikke oppgitt; PE, proteinekspressjon; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; Ref, referanse; S, serum; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 1.2: Mus eksponert til flere doser av PFOA

Dyr	An tall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike Doser	Ref.
Mus	120	<ul style="list-style-type: none"> •↓s-HDL. •↑Levervekt. •Histopatologisk funn i lever med hepatocytthypertrofi, hydropisk degenerasjon, og vakuoler, hvorav sistnevnte kan indikere lipidakkumulering. DA↑Lipiddråpe-akkumulering i kjerne på hepatocytter. •GE lever: ↑<i>Pparγ</i> •Foreslås: Lipiddråpeakkumulering i kjernen av hepatocytter bidrar til PFOA-assosiert toksisitet. PFOA kan gi hemmet transport av lipider fra leveren. Høyfettdiett påvirker ikke s-triglyserider, s-kolesterol og s-HDL slik som regulærdietten. 	<ul style="list-style-type: none"> •↓s-triglyserider, s-kolesterol, s-glukose, og s-LDL. •↓Ventralt fett. •DA ↓kroppsvekt. •↓Hepatisk glykogen. •GE lever: -- <i>Ppara</i>. 	PFOA	Ja	(38)
Mus	[3-8]	<ul style="list-style-type: none"> •GE lever: DA↑<i>Pparγ</i> og <i>-α</i>. Påvirket PPARα sine målgener: ↓apolipoprotein C-III (<i>Apoc3</i>), og ↑acyl-CoA binding protein (<i>Acbp</i>), <i>Acox1</i>, apolipoprotein A4 (<i>Apoa4</i>), carnitinepalmitoyl transferase 1A (<i>Cpt1a</i>), <i>Cyp4a10</i>, <i>Fabp1</i> og <i>Vldlr</i>. •GE lever: ↑<i>Srebf 1</i> og 2. ↑Målgener til SREBPs: fatty acid synthase (<i>Fasn</i>), <i>Hmgcr</i>, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA syntetase 1 og 2 (<i>Hmgcs 1</i> og 2), og low density lipoprotein receptor (<i>Ldlr</i>), lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>), og <i>Scd1</i>. ↑Av mikroribonukleinsyre-gruppen (miRNA cluster) kalt miR-183-96-182, viktig i dannelsen av SREBPs. •GE lever: ↓Hepatocyte nuclear factor 4 alpha (<i>Hnf4α</i>), og --GE til dens målgen. •PE lever: ↑Proteiner viktig for dannelsen/modning av SREBPs. •Foreslås: PFOA aktiverer modning til SREBPs. Muligens kan dens modning aktiveres av lavt total kolesterol i leveren. 	<ul style="list-style-type: none"> •Lever: ↓Triglyserider, DA ↓total kolesterol. •GE lever: -- <i>Pparβ</i>. 	PFOA	Ja	(48)
Mus	24	<ul style="list-style-type: none"> •DA↑s-insulin. DA↓s-adiponektin. DA↑fastende s-glukose. ↑Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR). •Histopatologiske forandringer hvitt fettvev. •GE hvitt fettvev: ↓fosforylert protein kinase B (<i>p-Akt</i>). DA↑phosphatase and tensin homologue (<i>Pten</i>). •PE hvitt fettvev: DA↑PTEN, ↓DA p-AKT og ↓p-AKT-positive celler, DA↓ glucose transporter type 4 (GLUT4)-positive celler, og DA↑PTEN-positive celler •Foreslås: PFOA hemmer signalering via AKT, som gir hemmet glukosehomeostase. 	<ul style="list-style-type: none"> •TA↓kroppsvekt. •DA↓s-leptin. •PE hvitt fettvev: ↓DA glycogen syntetase kinase 3-beta (GSK3β) 	PFOA	Ja	(34)
Mus	24	<ul style="list-style-type: none"> •↑s-ALAT og s-ASAT. •↑Levervekt. ↑Triglyseridinnhold i lever. 	<ul style="list-style-type: none"> •↓s-triglyserider. 	PFOA	Ja	(41)

		<ul style="list-style-type: none"> •Histopatologiske forandringer med vakuoler i hepatocytter, som kan indikere lipidakkumulering. •PE pankreasøyer: ↑insulin- og ↓poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)-positive celler. •PE lever: ↑fatty acid translocase (FAS)-positive celler, ↓apolipoprotein B (APO-B)-positive celler, og ↓DA hepatocellulær fibroblast vekst faktor 21 (FGF21) •Foreslås: Gir insulinekspresjon i pankreas og påvirker lipidregulerende proteiner. 	•Pankreas histopatologisk: --			
Mus	>40 [3-10]	<ul style="list-style-type: none"> •↑s-ALAT, ↑s-ASAT. ↓s- HDL. •↑Levervekt. •PE lever: ↑Markører for endoplasmatisk retikulum (ER)-stress, og ↑Markører for autofagiakkumulering. •Antioksidantforsvar i lever: Endret aktivitet til antioksidantzymer, ↓av en markør for oksidativ stress, ↑av en endogen antioksidant, og ↑GE til oksidativt stress responsive-gener. •GE lever: ↑Ppara. ↑ av målgener til PPAR: <i>Acox1</i>, <i>Cyp4a10</i>, <i>Fabp1</i> og <i>Vldlr</i>. ↑Målgener til SREBPs: <i>Srebf1</i>, fatty acid synthase (<i>Fasn</i>), <i>Hmgcr</i>, lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>) og <i>Scd1</i>. •Foreslås: Hepatotoksiske effektene kan komme av PFOA-indusert ER-stress. Ved samtidig bruk av ER-stress inhibatoren 4-phenylbutyrate (4-PBA) bedres ER-stress og serumverdiene, derimot er det ingen/liten influens på levervekt, kroppsvekt, GE, autofagiakkumulering og det forstyrrete antioksidantforsvaret i leveren. 	<ul style="list-style-type: none"> •↓s-triglyserid. • -- Kroppsvekt. •GE lever: -- <i>Pparγ</i>. 	PFOA	Ja, nei	(42)

Ordforklaringer: *Acox1*, peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1; ALAT, alanin aminotransferase; ASAT, aspartat aminotransferase; *Cyp*, cytokrom; DA, doseavhengig; *Fabp1*, fatty acid-binding protein 1; GE, genekspressjon; HDL, high-density lipoproteiner; *Hmgcr*, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase; LDL, low-density lipoproteiner; PE, proteinekspressjon; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; *Ppara*, peroxisome proliferator-activated receptor-alpha; *Pparβ*, peroxisome proliferator-activated receptor-beta; *Pparγ*, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma; Ref, referanse; *Scd1*, stearoyl-CoA desaturase 1; S, serum; *Srebf*, sterol regulatory element-binding transcription factor; SREBPs, sterol regulatory element-binding proteins; TA, tidsavhengig; *Vldlr*, very low-density lipoprotein receptor; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 1.3: Mus eksponert til PFOS

Dyr	Antall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike Doser	Ref.
Mus	48	<ul style="list-style-type: none"> • ↓s- High-density lipoproteiner (HDL). • ↑Kroppsvekt, DA↑levervekt, ↑lipidinnhold i lever. • Histopatologiske funn i lever, med hypertrofe hepatocytter og vakuoler, hvorav sistnevnte kan indikere lipidakkumulering. • Histologi av nyre, hjerte og tarm: -- • GE lever: ↑carnitinepalmitoyl transferase 1A (<i>Cpt1a</i>). • Høyfettdiett gir samme effekter på glukose- og lipidmetabolismen som regulærdiett. • Foreslås: Lipidforstyrrelsene er en følge av at low-density lipoproteiner (LDL) sin normale funksjon og sekresjon hemmes, og ikke fordi leveren skades. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑s-albumin. ↓s-triglyserider, s-LDL, s-kolesterol og s-glukose. • -- s-estradiol og s-testosteron. • ↓Vekt av hvitt fettvev. • ↓Matinntak. • ↓Hepatisk glykogeninnhold. • GE lever: -- Peroxisome proliferator-activated receptor- alpha (<i>Ppara</i>). 	PFOS	Ja	(35)
Mus	8	<ul style="list-style-type: none"> • GE hvitt fettvev: <ul style="list-style-type: none"> ➢ ↑Adipogene gener: CCAAT/enhancer binding protein α (<i>Cebpa</i>), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (<i>Pparγ</i>), fatty acid binding protein 4 (<i>Fabp4</i>) og lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>). ➢ ↑Gener relatert til nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2)- signalering: <i>Nrf2</i>, NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (<i>Nqo1</i>), superoxide dismutase (<i>Sod1</i>) og glutamate-cysteine ligase (<i>Gclc</i>). ➢ ↑GE av sterol and regulatory element binding protein-1c (<i>Srebp1c</i>). • Foreslås: PFOS aktiverer NRF2-signalering i hvitt fettvev, som kan bidra til adipogenese. 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑GE relatert til insulinsignalering i hvitt fettvev: insulinreseptor (<i>Insr</i>), glucose transporter type 4 (<i>Glut4</i>) og insulin receptor substrate 1 (<i>Irs-1</i>). 	PFOS	Nei	(47)

Ordforklaringer: DA, Doseavhengig; GE, genekspressjon; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFOS, perfluoroktansulfonat; Ref, referanse; S, serum; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 1.4: Studier på mus som bruker to eller flere ulike PFASer

Dyr	Antall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike doser	Ref.
Mus	[3-4]	<ul style="list-style-type: none"> •↑ Levervekt (PFOA, PFNA, PFDA). •↑Levervekt på en CAR-uavhengig måte (PFOA). •↑GE i lever for målgener til PPARα: <i>Cyp4a10</i> og peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (<i>Acox1</i>). (PFHA, PFOA, PFDA, PFNA) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑GE av CAR- målgener i lever (PFOA): <i>Cyp2b10</i> og aldehyde dehydrogenase 1 (<i>Aldh1</i>). CAR-avhengig økning i <i>Cy2b10</i>. •PE lever: ↑CAR i cellekjerne, som er indikasjon for aktivert CAR. (PFOA, PFNA og PFDA) •Foreslås: Alle fire PFASer aktiverer CAR på den indirekte måten. 	PFDA, PFHA, PFNA, PFOA	Nei	(43)
Mus	20	<ul style="list-style-type: none"> •↑Levervekt, ↑lipidinnhold og ↑triglyserid i lever i villtype-mus (PFOA, PFNA, PFHxS). •↑Levervekt (PFOA, PFNA, PFHxS), ↑lipidinnhold (PFNA, PFHxS) og ↑triglyserider (PFNA) i lever til PPARα null-mus. •GE i lever (PFOS, PFOA, PFNA, PFHxS): ↑GE relatert til fettsyretransport og oksidering, og syntese av triglyserider og fettsyrer. Blant annet ↑fatty acid translocase (<i>Fat</i>) og ↑stearoyl-CoA desaturase-1 (<i>Scd1</i>). •GE i lever (PFOS, PFOA, PFHxS): ↑fatty acid synthase gene (<i>Fasn</i>). •Foreslås: Hepatosteatose delvis på grunn av PPARα- uavhengige mekanismer, og fordi det er en forstyrret balanse mellom aktivering av gener for lipidnedbryting og fettsyre/triglyserid-syntese, til fordel for sistnevnte. 	<ul style="list-style-type: none"> •Kroppsvekt: -- (PFOA, PFNA, PFHxS). •GE lever: -- lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>) og sterol regulatory element-binding transcription factor 1 og 2 (<i>Srebf 1</i> og 2) 	PFOA, PFNA, PFHxS, (PFOS)	Nei	(32)
Mus	[6-8]		<ul style="list-style-type: none"> •↓Kroppsvekt, ↓hvitt fettvev-vekt og ↓matinntak, hvor alle var avhengig av tilstedeværelsen av uncoupling protein 1 (UCP1) i musene. (PFOS, PFOA). •Foreslås: Det er ikke økt termogenese som er årsak til reduksjon i kroppsvekt, men reduksjonen i matinntak. Redusert matinntak er avhengig av tilstedeværelsen av UCP1 i musene. 	PFOS, PFOA	Nei	(49)
Mus	[6-7]	<ul style="list-style-type: none"> •↑Levervekt (PFOA, PFOS) og ↑hepatocyttoproliferasjon (PFOA), begge på en CAR- uavhengig måte. •↑GE i lever av målgener til PPARα (PFOS, PFOA): peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (<i>Acox1</i>), <i>Cyp4a10</i>, glutathione S-transferase (<i>Gstm3</i>), <i>Cyp2b10</i>, <i>Cyp3a11</i>, hvor flere er CAR-uavhengig. 	<ul style="list-style-type: none"> •GE lever: ↑<i>Cyp2b10</i> på en CAR-avhengig måte. •Foreslås: CAR aktiveres av PFAS, men spiller sannsynligvis en mindre rolle i forhold til PPARα i å bidra til de toksiske effektene til PFASer. 	PFOA, PFOS	Nei	(39)

Ordforklaringer: CAR, constitutive androstane receptor; *Cyp*, cytokrom; GE, genespresjon; PE, proteinekspresjon; PPAR α , peroxisome proliferator-activated receptor- alpha; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFDA, perfluordekansyre; PFHA, perfluoroheptanoic acid; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; Ref, referanse; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 1.5: Eksponerte rotter og katter

Dyr	Antall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike Doser	Ref.
Rotte	96	<ul style="list-style-type: none"> •↑Levervekt. •Histopatologiske funn i lever med cellulær hypertrofi. •GE lever: ↑Enzymer involvert i lipidakkumulering: enoyl-CoA hydratase and 3-hydroxyacyl CoA dehydrogenase (<i>Ehhadh</i>) og stearoyl-CoA desaturase 1 (<i>Scd1</i>). •♂: ↑s-ALAT, samt lever med ↑lipid, ↑triglyserid og ↑frie fettsyrer. •Foreslås: Hepatosteatoze kun for ♂, som ikke bedres av kolintilskudd i dietten. Tyder ikke på at kolin-PFOS-ione kompleks er bakenforliggende årsak til hepatosteatoze. 	<ul style="list-style-type: none"> •♀: Lever med --lipidinnhold, triglyserid og kolesterol. •♂: ↓s-total kolesterol, s-low -density lipoproteins (LDL), s-triglyserid og s-lipase. –kolesterol i lever. •♂♀: -- matinntak og ↓kroppsvekt. 	PFOS	Nei	(44)
Rotte	40	<p>Diabetiske rotter:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Lever: DA↑triglyserid og DA↑total kolesterol. •Aktivitet til enzymer i lever: ↑fatty acid synthase (FAS) og glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD). •Foreslås: PFNA gir alvorlig konsekvenser i diabetiske rotter. 	<p>Diabetiske rotter:</p> <ul style="list-style-type: none"> •--s-triglyserid, s-total kolesterol, s-glukose, s-ASAT og s-ALAT. •Aktivitet til lipolytiske enzymer i leveren: ↓hepatisk lipase (HL) og –lipoprotein lipase (LPL). •PE lever: ↓liver X receptor alpha (LXRα), DA↓ apolipoprotein E (APO-E). 	PFNA	Ja	(46)
Katt	72	<ul style="list-style-type: none"> •↑ risiko for høyere kroppsvekt for høyeste PFAS-konsentrasjoner (total PFAS) i forhold til laveste: Odds ratio= 5.3 (95% Konfidensintervall: 1.54–18.44), p-verdi <0.05. •↑ Risiko for å være i kategoriene optimal kroppsvekt til veldig fedme, for høyeste PFAS-konsentrasjoner (total PFAS) i forhold til laveste: Odds ratio= 4.4 (95% Konfidensintervall: 0.96–19.8), p-verdi >0.05. •Tyngre katter er signifikant assosiert med høyere konsentrasjonsnivå av PFOS (p-verdi=0.0008) og PFHxS (p-verdi =0.012). 		PFBS, PFDA, PFDOA, PFHA, PFHxS, PFNA, PFOA, PFOS, PFUA.	Ja	(24)

Ordforklaringer: ALAT, Alanin aminotransferase; ASAT, aspartat aminotransferase; DA, doseavhengig; GE, genekspresjon; PE, proteinekspresjon; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer, PFBS, perfluorbutansulfonat; PFDA, perfluordekansyre; PFDOA, perfluorododecanoic acid; PFHA, perfluoroheptanoic acid;

PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; PFUA, perfluoroundecanoic acid; Ref., referanse; S, serum; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret; ♂, hannkjønn; ♀, hunnkjønn.

Tabell 1.6: Mus eksponert under svangerskap

Dyr	Antall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike Doser	Ref.
Mus	12	<p>Prenatalt eksponerte fosterlever gir funn som kan få betydning for avkom. Påviser 780 differentially expressed genes (DEGs), hvorav bioinformatiske analyser viser at DEGs er relatert til:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Metabolisme av fettsyrer, lipider og triglyserider, fettsyresyntese, og lipidtransport. •Dysregulering av peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-signaleringsvei, induksjon av fettsyre/lipid syntese og metabolisme, og aktivering av liver X receptor (LXR)/ retinoid X receptor (RXR)-signaleringsvei. •Nedregulering av gener relatert til hepatisk steatose. I tillegg affeksjon av prosesser relatert til leverinflammasjon. 		PFOS	Ja	(54)
Mus	346	<ul style="list-style-type: none"> •De første 11 leveukene: ↓Kroppsvekt (PFOA). •Voksen: ↑Levervekt (PFOA). 	<ul style="list-style-type: none"> •Voksen: –Matinntak (PFOS, PFOA). ↓s-glukose (PFOA). --levervekt, kroppsvekt og s-glukose (PFOS). 	PFOA, PFOS	Ja	(52)

Ordforklaringer: PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; Ref., referanse; S, serum; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 1.7: Mus og rotter eksponert under svangerskap og under ammeperioden

Dyr	Antall	Positive funn	Negative funn	Type PFAS	Ulike Doser	Ref.
Mus	<ul style="list-style-type: none"> •48 muse-mødre •144 muse-barn 	<ul style="list-style-type: none"> •Voksne ♂: DA ↑levervekt. DA↑kroppsvekt* etter oppstart med høyfettdiett i voksen alder, og histopatologiske funn i brunt fettvev med lipidakkumulering. •Foreslås: Metabolsk programmering som årsak til forstyrret metabolsk homeostase som voksen. 	<ul style="list-style-type: none"> •Mødre: --kroppsvekt under svangerskap. •Voksne ♂og♀: -- Glukose toleranse-test (GTT) og insulin toleranse-test (ITT). --s-leptin, s-grelin, s-adiponektin, s-insulin og s-glukagon. DA↓ kroppsvekt fra barnealder til voksen. •Voksne ♀: DA↓hvitt fettvev-vekt, DA↓s-triglyserider, DA↓s-kolesterol, ytterligere DA↓ kroppsvekt etter oppstart med høyfettdiett i voksen alder. •Voksne ♂: -- s-kolesterol, s-frie fettsyrer, s-low-density lipoproteiner (LDL) og s-triglyserid. 	PFOA	Ja	(53)
Mus	<ul style="list-style-type: none"> •18 muse-mødre •>36 muse-barn, [4- 8] 	<ul style="list-style-type: none"> •Musemødre: ↑ Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (HOMA-IR), og ↑levervekt. •Musebarna ved avsluttet amming og deres GE i lever: Gener relatert til lipid- og glukosemetabolisme er påvirket: ↑<i>Cyp4a14</i>, lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>), fatty acid translocase (<i>Fat</i>), insulin reseptor (<i>Ir</i>), og insulin-like growth factor receptor (<i>Igf-ir</i>). ↓Prolactin reseptor (<i>Prlr</i>) og insulin-like growth factor (<i>Igf-1</i>). •Voksen: ↑s-insulin, fastende s-glukose, og levervekt. •Foreslås: Perinatal eksponering påvirker glukosemetabolismen til avkommet, og høyfettdiett forverrer effektene på levervekt, s-insulin og s-glukose. 	<ul style="list-style-type: none"> •Barna ved avsluttet amming: -- HOMA-IR og fastende s-glukose. •Voksen: --Kroppsvekt, oral glukosetoleranse-test og intraperitoneal insulin toleranse-test. 	PFOS	Ja	(50)
Rotte	180 musebar n	<ul style="list-style-type: none"> •↓Kroppsvekt ved fødsel, tok igjen veksten i voksen alder. •Voksen: Prediabetes med ↑s-insulin og↑s-leptin, hemmet oral glukose toleranse-test, ↓s-adiponektin. ↑Vekt til hvitt fettvev. •GE lever: ↑sterol and regulatory element binding protein-1c (<i>Srebp1c</i>). •Histopatologiske funn i lever med unormal fettakkumulering og ↑triglyserid. •Foreslås: Eksponering prenatalt og under amming kan ha bidratt til forstyrrelser i glukose- og fettmetabolismen som voksen. 	<ul style="list-style-type: none"> •Voksen: --fastende s-glukose, fastende s-glykosylert serum protein, fastende s-triglyserid, og s-kolesterol. •Pankreas: --betacelleareal. •Fettvev: --adipocytstørrelse. 	PFOS	Ja	(51)

Ordforklaringer: *Cyp*, cytokrom; DA, doseavhengig; GE, genespresjon; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; Ref., referanse; S, serum; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret; ♂, hannkjønn; ♀, hunnkjønn; *, ikke-signifikant funn (p-verdi>0.05).

Tabeller 2: Cellestudier

For å svare på problemstillingen «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter», ble flere studier på celler eksponert til per- og polyfluorerte alkylstoffer (PFASer) gjennomgått. Funnene fra dem presenteres i tabeller 2.1 - 2.10:

- Tabell 2.1: Aktivitet til enzymene glycerol-3-phosphate dehydrogenase og kolin kinase
- Tabell 2.2: Effekt på reaktive oksygen spesies og en adipogenese-relatert signaleringsvei
- Tabell 2.3: Effekt på cellestørrelse og celleantall
- Tabell 2.4: Effekt på betaoksidasjon og termogenese
- Tabell 2.5: Effekt på metylering
- Tabell 2.6: Effekt på insulinstimulert glukoseopptak og pankreas morfologi
- Tabell 2.7: Effekt på ekspresjon til proteiner relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen
- Tabell 2.8: Effekt på innhold av lipider, triglyserider og total kolesterol i cellene
- Tabell 2.9: Effekt på kjernereseptorer
- Tabell 2.10: Effekt på ekspresjon til gener relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen

Tabellene er oppbygd på følgende måte: Type celle oppgis i første kolonne, mens type eksperiment og antall ganger eksperimentet er gjennomført per studie nevnes i neste kolonne. Videre oppgis det hvilke metoder som er brukt, og om studiene/studien har gjort eksperimentet på flere ulike doseringer eller ikke. Positive funn er funn som taler for problemstillingen, mens negative funn taler imot, slik at økt nivå av lipid i celler vil tale for diabetes type 2 og være et positivt funn. Bare signifikante funn (p-verdi $<0,05$) er tatt med i tabellen, med mindre annet står beskrevet, og doseavhengige (DA) effekter er markert med rødt. Referanse/-r nevnes med fotnote i parentes bak funnet. Type PFAS som det/de negative eller positive funnene gjelder for står under funnet. Flere studier har testet for flere PFASer, slik at det totale antall PFASer for en rad ikke nødvendigvis vil stemme med antall referanser for den raden.

X2, x3, og så videre, som står i parentes bak enkelte celletyper/metoder/antall eksperiment/type PFAS, indikerer hvor mange av referansene for den aktuelle raden som gjelder for celletypen/metoden/antall eksperiment/type PFAS. Står det ikke parentes bak med x2, x3, og så videre, vil det indikerer at celletypen/metoden/antall eksperiment/type PFAS gjelder for kun en studie eller resterende av referansene i kolonnen.

Proteinekspresjon (PE) som er brukt i tabellen innebefatter i denne sammenhengen påvisning av proteiner i celler, ved bruk av immunohistokjemiske undersøkelser (som immunostaining), immunofluorescens eller western blotting. Genekspresjon (GE) er brukt om påvisning av økt budbringer-ribonukleinsyre (mRNA) for gen. Hovedregelen for hvordan gen og proteiner oppgis i tabellene, er at symbolene for gen vil markeres med kursiv, mens symbolene for proteiner vil være uten kursiv.

For å kunne svare på en best mulig og korrekt måte, er flere engelske navn på signaleringsveier, kjernereseptorer, gen, proteiner, metoder, celletyper og enkelte PFASer forblitt på engelsk. Ordforklaringer ligger nedenfor hver tabell, men navn på de fleste signaleringsveier, kjernereseptorer, gen og proteiner oppgis i tabellene med det fulle navnet og forkortelsen i parentes bak, for hver ny rad i hver tabell. Det vil si at møter man en forkortelse som er brukt uten at det hele navnet står sammen med den, skal forkortelsen være forklart tidligere i samme rad, selv om det kan være i en annen kolonne (hvis ikke vil den stå i ordforklaringen under tabellen). Forkortelsene til navnene er tatt med i parentes bak, da det kan være lettere å gjenkjenne disse navnene med forkortelsene heller enn det fulle navnet alene, og fordi noen navn er mer kjent på forkortelsen enn det fulle navnet. For enkelte metoder er ikke forkortelsen forklart i tabellen eller i ordforklaringen, siden artikkelen metoden ble hentet fra ikke oppga ordforklaring til forkortelsen.

Tabell 2.1: Aktivitet til enzymene glycerol-3-phosphate dehydrogenase og kolin kinase

Celltype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Muse 3T3-L1 adipocyt	•Aktivitet til glycerol-3-phosphate dehydrogenase (GPDH) • 4	GPDH activity assay kit	Ja	•DA↑(57) • PFOA	
Human HEK 293 embryonal nyre celle	• Aktivering av kolin kinase, enzym viktig for dannelse av fettstoffet fosfatidylkolin/lecitin. • 3	NADH-coupled choline kinase activity assay	Nei		•Ingen hemmende effekt (44) •PFOS

Ordforklaringer: DA, doseavhengig; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; ↑, økt.

Tabell 2.2: Effekt på reaktive oksygen spesies og en adipogenese-relatert signaleringsvei

Celletype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Muse 3T3-L1 adipocyt	<ul style="list-style-type: none"> • Undersøke om effekt på nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2)-signaleringsvei, (en adipogenese-relatert signaleringsvei), ved å undersøke om økt binding av transkripsjonsfaktoren NRF2 til muse NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (NQO1) -promotor. • IO 	Chromatin immunoprecipitation assay	Nei	<ul style="list-style-type: none"> • ↑binding, som er viktig for ekspresjon av NRF2 sine målgener. (47) • PFOS 	
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • Effekt på reaktive oksygen spesies (ROS) • 3 	2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) method	Nei	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (42) • PFOA 	

Ordforklaringer: IO, ikke oppgitt; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; ↑, økt.

Tabell 2.3: Effekt på cellestørrelse og celleantall

Cellettepe	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Muse 3T3-L1 adipocyt	<ul style="list-style-type: none"> • Om påvirket celleantall når celle eksponeres under differensiering • 4 	Hematoxylin staining.	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • ↑DA, kan tyde på at PFAS bidrar til økt adipogenese (60) • PFOA, PFNA, PFOS, PFHxS 	
Muse 3T3-L1 adipocyt	<ul style="list-style-type: none"> • Om påvirket cellestørrelse når celle eksponeres under differensiering • 4 	Hematoxylin staining.	Ja		<ul style="list-style-type: none"> • ↓ (60) • PFOA, PFNA, PFOS, PFHxS

Ordforklaringer: DA, doseavhengig; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoff; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluoronansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; ↓, redusert; ↑, økt.

Tabell 2.4: Effekt på betaoksidering og termogenese

Celltype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Levermi to kondrie, rotte	• Effekt på fettsyre oksidering: Transport til og oksidering i mitokondriet • 3	Oksidering av palmitoyl-carnitine, Clark-type oksygen elektrode.	Nei		•Ingen hemmende effekt. (32) • PFOA, PFOS, PFOSA
HepG2/C3A humane leverceller	• Effekt på fettsyreoksidering: Aktivering i cytosol • IO	Oksidering av palmitate-BSA, Seahorse Bioscience technology	Ja		•Ingen hemmende effekt. (32) •PFOA, PFOS
Musemi tokondrie, brunt fettvev	• Uncoupling Protein 1 (UCP1)-mediert oksygenforbruk (termogenese) • 4	Oksygenforbruk ved Clark-type oksygen elektrode	Ja	•Høye doser: hemmende effekt på respirasjonskjeden. (73) •PFOA, PFOS	•Direkte aktivering og reaktivering av termogenesen. (73) •PFOA, PFOS

Ordforklaringer: IO, ikke oppgitt; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; PFOSA, perfluoroktan sulfonamid.

Tabell 2.5: Effekt på metylering

Celltype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
•Human mesenchymal stam celler (hMSC)	•Identifisere differentially methylated single positions (DMPs) og differentially methylated regions (DMRs) i genomet, og identifisere DMRs i 84 adipogene gener. •4	Illumina Infinium HumanMethylation 450 BeadChip, Linear Models for Microarray, og Data DMRcate package.	Nei	Hypometylering er mer uttalt enn hypermetylering i 45 DMPs i genomet, og 1/3-del av de 45 potensielle DMPs var i intergenetiske regioner. DMRs er spredt i genomet, deriblant i insulin-like growth factor 1 (IGF-1)-signaleringsveien. (71) •PFOA	•Kun et adipogent gen (proadipogent gen) viste å være DMRs og samtidig å ha påvirket ekspresjon (↓ ekspresjon). DMRs er derfor ikke overrepresentert i adipogene gener. (71) •PFOA
•Murine Neuro-2A neuroblastoma celler (N2A) •Humane neuroblastoma cellelinje SK-N-AS celler	•Effekt på global DNA-metylering •6	High-performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) system.	Nei		•-- (56) •PFOA, PFOS

Ordforklaringer: DNA, deoksyribonukleinsyre; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; ↓, redusert; --, upåvirket/uendret.

Tabell 2.6: Effekt på insulinstimulert glukoseopptak og pankreas morfologi

Celletype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Sebrafisk embryo	<ul style="list-style-type: none"> •Effekt på betacellemorfologi i pankreas. • 3 	<ul style="list-style-type: none"> • Florescens mikroskopi 	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ endring med fragmenterte, veksthemmte og ektopiske celler. (72) • PFOS 	
Sebrafisk embryo	<ul style="list-style-type: none"> • Pankreasøyer («pancreatic islets»)/betacellemasse i pankreas • 3 	<ul style="list-style-type: none"> • Inverted fluorescence microscope (EVOS FL Auto imaging system) • Fluorescent microscopy 	Ja, nei	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ (72, 79) • PFOS 	
Sebrafisk embryo	<ul style="list-style-type: none"> • Antall sekundære pankreasøyer («secondary islets») og pankreaslengde • 3 	<ul style="list-style-type: none"> • Inverted fluorescence microscope (EVOS FL Auto imaging system) 	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • ↓ Antall sekundære pankreasøyer og pankreaslengde. (72) • PFOS 	
<ul style="list-style-type: none"> • Muse 3T3-L1 adipocyt • Human hepatocarcinom a celle (HepG2) 	<ul style="list-style-type: none"> • Insulinstimulert glukoseopptak • 3, 8 	<ul style="list-style-type: none"> • 2-NBDG analyse. • Glucose assay kit. 	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • DA↓ (55) • PFOS 	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑(47) • PFOS

Ordforklaringer: DA, doseavhengig; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer, PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; 2-NBDG, 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy-d-glucose; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 2.7: Effekt på ekspresjon til proteiner relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen

Celletype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Muselever celle (AML12)	<ul style="list-style-type: none"> • PE av fatty acid translocase (FAS) • IO 	Immunoblot assay	Nei	<ul style="list-style-type: none"> •↑ (45) •PFOA 	
Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6)	<ul style="list-style-type: none"> • Proteiner involvert i modning/dannelse av sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) • 3 	Western blotting	Ja		<ul style="list-style-type: none"> •-- (48) •PFOA
Human hepatocarcinoma cell (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • PE av fosforylert protein kinase B (p-AKT) •3 	Immunofluorescens staining	Ja	<ul style="list-style-type: none"> •↓(55) •PFOS 	
Human hepatocarcinoma celle(HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • PE relatert til endoplasmatisk retikulum (ER)-stress. • 3 	Western blotting	Nei	<ul style="list-style-type: none"> •↑(42) •PFOA 	
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • Effekt av endoplasmatisk retikulum (ER) - stress inhibitoren (4-phenylbutyrate (4-PBA)) på PFAS-indusert ER-stress. • 3 	Western blotting	nei		<ul style="list-style-type: none"> •↓ER-stress (42) •PFOA
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • Effekt av autofagi inhibitorer/ stimulatorer og antioksidant på PFAS-indusert endoplasmatisk retikulum (ER)-stress. • 3 	Western blotting	Nei	<ul style="list-style-type: none"> •-- ER-stress (42) •PFOA 	
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> •PE av markører for autofagosom-akkumulering •3 	Western blotting	Nei	<ul style="list-style-type: none"> •↑(42) •PFOA 	
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • Effekt av antioksidant på PFAS-indusert autofagosom-akkumulering •3 	Western blotting	Nei	<ul style="list-style-type: none"> •Ingen effekt. (42) •PFOA 	
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • Effekt av endoplasmatisk retikulum (ER)-stress inhibitor (4-phenylbutyrate (4-PBA)) på PFAS-indusert autofagosom-akkumulering • 3 	Western blotting.	Nei		<ul style="list-style-type: none"> •↓ (42) •PFOA

Ordforklaringer: IO, ikke oppgitt; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; PE, proteinkspresjon; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 2.8: Effekt på innhold av lipider, triglyserider og total kolesterol i cellene

Celltype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
<ul style="list-style-type: none"> • Muse 3T3-L1 adipocyt (x6) • Humane visceral adipocyt • Human mesenchymal stam celle (hMSC) • Simpson-Golabi-Behmel syndrome humane preadipocyt celle (SGBS) • Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6) • Human hepatocarcinoma celle (HepG2) • Sebrafisk hepatocyt 	<ul style="list-style-type: none"> • Lipidinnhold i celle. • IO (x2), 3(x6), 4(x3), 6 	<ul style="list-style-type: none"> • Oil Red O staining. (x9) • Flowcytometri med Nile Red fluorescent lipid staining. • Flowcytometri ved fluorescent neutral lipid dye BODIPY 493/503 staining. (x2) 	Ja (x11), Nei	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (25, 58, 59) • ↑ (47) x2, (42, 48, 56, 57) • PFOA (x5), PFBA, PFOS (x2), 6:2Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	<ul style="list-style-type: none"> • DA↓ (60) • ↓(71) x2 • PFOA, PFNA, PFHxS, PFOS (x3)
<ul style="list-style-type: none"> • Muse 3T3-L1 adipocyt (x5) • Human hepatocarcinoma celle (HepG2) • Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6) 	<ul style="list-style-type: none"> • Triglyserid-innhold i cellen. • IO, 3 (x3), 4, 5, 6, 	<ul style="list-style-type: none"> • MDI-medium. • Hydrolyse og spektrofotometer. • Kloroform/metanol mikstur med spektrofotometrisk analyse. • Hydrolyse av glyserol målt ved kolorimetri. • Adipogenese assay kit. • Oil red O staining. • Tissue triglyceride assay. 	Ja (x7)	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (55, 57, 58, 60) • ↑ (47, 59) • PFOS (x4), PFOA (x3), PFNA, PFHxS, 6:2Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	<ul style="list-style-type: none"> • -- (48) • PFOA
Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6)	<ul style="list-style-type: none"> • Totalkolesterol i celle. • 3 	Tissue cholesterol assay kits	Ja		<ul style="list-style-type: none"> • -- (48) • PFOA
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • Effekt av endoplasmatisk retikulum (ER)-stress-inhibitoren (4-phenylbutyrate (4-PBA)) på PFAS-indusert økt lipidinnhold i cellen • 3 	Flow cytometri ved fluorescent neutral lipid dye BODIPY 493/503 staining.	Nei		<ul style="list-style-type: none"> • ↓lipid i celle (42) • PFOA

Ordforklaringer: DA, dose-avhengig; IO, ikke oppgitt; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; PFBA, perfluorbutansyre; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; 6:2 Cl-PFAES, 6:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate; 8:2 Cl-PFAES, 8:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 2.9: Effekt på kjernereseptorer

Cellotype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
<ul style="list-style-type: none"> • Muse 3T3-L1 adipocytter. • Sebrafisk hepatocytter • Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6) 	<ul style="list-style-type: none"> • GE til <i>Ppara</i>. • 3 (x2), 5 	<ul style="list-style-type: none"> • qPCR (x2). • RT-PCR. 	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (60) • PFHxS, PFNA, PFOS, PFOA 	<ul style="list-style-type: none"> • -- (25, 48) • PFBA, PFHxA, PFOA (x2)
<ul style="list-style-type: none"> • Human HEK 293 embryonal nyre celle • COS-1 celle 	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivitet til PPARα. • 3, 4 	<ul style="list-style-type: none"> • Luciferase reporter gene assay. • Dual-Glo Luciferase Assay Systems. 	Ja, nei	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (58) • ↑(43) • PFHA, PFNA, PFOA, PFOS, 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	
Sebrafisk hepatocytt	<ul style="list-style-type: none"> • GE til <i>pparβ</i> • 3 	qPCR	Ja		<ul style="list-style-type: none"> • -- (25) • PFBA, PFHxA PFOA
Human HEK 293 embryonal nyre celle	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivitet til PPARβ • 3 	Luciferase reporter gene assay.	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (58) • PFOS, 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	
<ul style="list-style-type: none"> • Sebrafisk hepatocytt • Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6) • Muse 3T3-L1 adipocytt (x4) 	<ul style="list-style-type: none"> • GE til <i>Pparγ</i> • IO, 3 (x3), 5, 6 	<ul style="list-style-type: none"> • qPCR (x2). • RT-PCR (x3) • RT-qPCR. 	Ja (x5), nei	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (57, 59) • ↑ (47, 60) • PFHxS, PFOA (x3), PFOS (x2) 	<ul style="list-style-type: none"> • -- (25, 48) • PFBA, PFHxA, PFOA (x2)
Human HEK 293 embryonal nyre celle	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivitet til PPARγ • 3 	<ul style="list-style-type: none"> • Luciferase reporter gene assay. • Luciferase reporter cell assay. 	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (58) • ↑ (44) • PFOS (x2), 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	
Muse 3T3-L1 adipocytt	<ul style="list-style-type: none"> • PE til PPARγ • 3 	Western blotting	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • DA↑ (59) • PFOA 	
Muse 3T3-L1 adipocytt	<ul style="list-style-type: none"> • PFAS sin evne til å binde til PPARγ • 2 	EnBio receptor cofactor assay system (RCAS) for PPAR γ Kit	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • Binder ved en konsentrasjon på >10 mikromol, og binder svakere enn agonisten. (57) • PFOA 	
Ikke aktuelt	<ul style="list-style-type: none"> • PFAS sin affinitet til bindingssetet hvor ligander binder PPARα, -β og -γ. • 3 	Fluorescence polarization based competitive binding assay.	IO	<ul style="list-style-type: none"> • Binder direkte til bindingssetet hvor ligander binder. Dette gjelder for alle de 3 PPARs. (58) • PFOS, 6:2Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	
Ikke aktuelt	<ul style="list-style-type: none"> • PFAS sin strukturelighet til PPARα, -β og -γ. • 3 	Molekylær docking	IO	<ul style="list-style-type: none"> • PFAS passer inn i bindingssetet hvor ligander binder, og dette gjelder for alle de 3 PPARs. Sannsynligvis aktivering lik fettsyrer. (58) • PFOS, 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES 	

Human HEK 293 embryonal nyre celle	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivitet til rotte liver X receptor (LXR)-beta, human LXR-alpha, og rotte pregnane X receptor (PXR). • 3 	Luciferase reporter cell assay	IO		<ul style="list-style-type: none"> •--(44) •PFOS
COS-1	<ul style="list-style-type: none"> • Aktivering av constitutive activated receptor (CAR)- på den direkte eller indirekte måten. • 4 	Dual-Glo Luciferase Assay Systems, og RT-qPCR.	Nei	<ul style="list-style-type: none"> •Ikke direkte aktivering siden PFOA ikke fungerer som humane- eller muse CAR-ligander. Tyder på indirekte aktivering, hvor mekanismen er forskjellig fra fenobarbital. (43) •PFOA 	
Humane perifere blodceller	<ul style="list-style-type: none"> •Differentially expressed genes (DEGs) • IO 	Agilent two-color microarray technology and associated protocols.	Nei		<ul style="list-style-type: none"> •-- GE til kjernereseptorer. (78) •PFOA

Ordforklaringer: DA, doseavhengig; GE, genekspressjon; IO, ikke oppgitt; PE, proteinekspressjon; PFAS, per- og polyfluorerte alkylstoffer; PFBA, perfluorbutansyre; PFHA, perfluoroheptanoic acid; PFHxA, perfluorheksansyre; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; PPAR α , peroxisome proliferator-activated receptor- alpha; PPAR β , peroxisome proliferator-activated receptor- beta; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor- gamma; qPCR, quantitative polymerase chain reaction; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; RT-qPCR, quantitative reverse transcription polymerase chain reaction; 6:2 Cl-PFAES, 6:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate; 8:2 Cl-PFAES, 8:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret.

Tabell 2.10: Effekt på ekspresjon til gener relatert til karbohydrat- og fettmetabolismen

Celltype	•Type eksperiment •Antall eksperimenter	Metode	Ulike doser	•Positive funn og referanse •Type PFAS	•Negative funn og referanse •Type PFAS
Muse 3T3-L1 adipocyt	•GE til fatty acid binding protein 4 (<i>Fabp4</i>) •IO, 3 (x2), 6.	•RT-PCR (x3) •RT-qPCR	Ja(x3), Nei	•↑(47, 57-59) • PFOA (x2), PFOS (x2), 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES	
Muse 3T3-L1 adipocyt	•GE til CCAAT/enhancer binding protein α (<i>Cebpa</i>) •IO, 3(x2), 6.	•RT-PCR (x3) • RT-qPCR	Ja(x3), nei	•DA↑(57) •↑ (47, 58, 59) • PFOA (x2), PFOS (x2), 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES	
Muse 3T3-L1 adipocyt	•GE til lipoprotein lipase (<i>Lpl</i>) •3, 6	RT-PCR	Ja	•↑ (57, 59) • PFOA (x2)	
Muse 3T3-L1 adipocyt	•GE til glucose transporter type 4 (<i>Glut4</i>) • IO, 3.	• RT-PCR. • RT-qPCR	Ja	•↑(47, 57) • PFOA, PFOS	
Muse 3T3-L1 adipocyt	• GE til peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (<i>Acox1</i>), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (<i>Gapdh</i>), og peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha (<i>Pparγ1α</i>) • 5	qPCR	Ja	•↑ (60) • PFHxS, PFNA, PFOA, PFOS	
Muse 3T3-L1 adipocyt	• Ge til stearoyl-CoA desaturase-1 (<i>Scd1</i>) • 5	qPCR	Ja	•↑ (60) • PFHxS, PFOA, PFOS	
Muse 3T3-L1 adipocyt	•GE til insulin receptor substrate 1 (<i>Irs-1</i>) og sterol and regulatory element binding protein-1c (<i>Srebp1c</i>). • IO	RT-qPCR	Ja	•↑ (47) •PFOS	
Muse 3T3-L1 adipocyt	• GE til insulinreseptor (<i>Insr</i>) • IO	RT-qPCR	Ja		•--(47) •PFOS
Muse 3T3-L1 adipocyt	• GE til adiponectin (<i>Adip</i>) og leptin (<i>Lep</i>) •3	RT-PCR	Ja	•↑ (58) • PFOS, 6:2 Cl-PFAES, 8:2 Cl-PFAES	
Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6)	•GE til carnitinepalmitoyl transferase 1A (<i>Cpt1a</i>) og fatty acid-binding protein 1 (<i>Fabp1</i>). •3		Ja	•↑ (48) •PFOA	
Sebrafisk hepatocytter	•GE til carnitine <i>O</i> -octanoyltransferase (crot), og fatty acid binding protein 3 (<i>fabp3</i>) •5	qPCR	Ja		•-- (25) • PFBA, PFHxA, PFOA
Human hepatocyte-like HepaRG	•GE til <i>CYP2B6</i> , <i>CYP3A4</i> , <i>CYP4A11</i> , og aldehyde dehydrogenase 1 (<i>ALDH1</i>). •1	RT-qPCR	Ja	•↑ (43) •PFHA, PFOA	
Sebrafisk embryo	• GE i pankreas til genene <i>glukagon</i> og <i>pancreatic and duodenal homeobox 1</i> (<i>pdx1</i>).	RT-qPCR	Ja	•↑ (72) •PFOS	

	<ul style="list-style-type: none"> • 3 				
Sebrafisk embryo	<ul style="list-style-type: none"> • GE i pankreas til genene <i>insulin</i>, <i>ghrelin</i> og <i>somatostatin</i>. • 3 	RT-qPCR		<ul style="list-style-type: none"> • ↓ (72) • PFOS 	
Human hepatocarcinoma celle (HepG2)	<ul style="list-style-type: none"> • GE av phosphoenolpyruvate carboxykinase (<i>PEPCK</i>). • 3 	RT-qPCR	Ja	<ul style="list-style-type: none"> • DA ↑ (55) • PFOS 	
Muse hepatocellulære carcinoma celle (Hepa1-6)	<ul style="list-style-type: none"> • GE av mikroribonukleinsyre-gruppen (miRNA cluster) kalt miR-183-96-182, som er involvert i modning/dannelse av sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) • 3 	TaqMan microRNA (miRNA) assay	Ja		<ul style="list-style-type: none"> • --(48) • PFOA
Muse 3T3-L1 adipocyt	<ul style="list-style-type: none"> • GE til nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (<i>Nrf2</i>), NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (<i>Nqo1</i>) og glutamate-cysteine ligase (<i>Gclc</i>) • IO 	RT- qPCR.	Nei	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ (47) • PFOS 	
Humane perifere blodcelle	<ul style="list-style-type: none"> • Differentially expressed genes (DEGs) • IO 	Agilent two-color microarray technology and associated protocols.	Nei		<ul style="list-style-type: none"> • ↓ DEGs assosiert med fedme og metabolske sykdommer. (78) • PFOA

Ordforklaringer: *CYP*, cytokrom; DA, doseavhengig; GE, genekspressjon; IO, ikke oppgitt; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; PFBA, perfluorbutansyre; PFHA, perfluoroheptanoic acid; PFHxA, perfluorheksansyre; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; qPCR, quantitative polymerase chain reaction; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; RT-qPCR, quantitative reverse transcription polymerase chain reaction; 6:2 Cl-PFAES, 6:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate; 8:2 Cl-PFAES, 8:2 Chlorinated polyfluorinated ether sulfonate; ↓, redusert; ↑, økt; --, upåvirket/uendret;

Tabell 3: Oppsummeringstabell av de mest konsistente funnene fra celle- og dyrestudiene

For å svare på problemstillingen «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter», ble flere studier på celler og dyr eksponert til per- og polyfluoreerte alkylstoffer (PFASer) gjennomgått, se tabeller 1 og 2. En oppsummering av positive funn som er konsistente mellom celle- og dyrestudiene presenteres nedenfor. Tabellen er laget med utgangspunkt i tabeller 1,1-1.7 og 2.1-2.10. Type effekt/funn nevnes i første kolonne, og antall celle- og dyrestudier med enten økt eller doseavhengig (DA)-økning nevnes deretter, hvorav de doseavhengige-funnene er markert med rødt. X2, x3, og så videre, indikerer antall studier funnet gjelder for, og der det ikke står noe bak, indikerer det at funnet gjelder for en studie (det vil si; x1). Referansene står i siste kolonne.

For enkelte cellestudier er samme eksperiment gjort på ulike cellelinjer, og i tillegg vil noen studier ha positivt funn *in vitro* og *in vivo*. Der dette er tilfelle, vil totalt antall referanser i siste kolonne ikke nødvendigvis stemme overens med antall oppregulerte piler i samme rad. Bare signifikante funn (p-verdi <0,05) er inkludert. Proteinekspressjon (PE) som er brukt i tabellen innebærer i denne sammenhengen påvisning av proteiner i vev/celler, ved bruk av immunohistokjemiske undersøkelser (som immunostaining), immunofluorescens eller western blotting. Genekspressjon (GE) er brukt om påvisning av økt budbringerribonukleinsyre (mRNA) for gen, via blant annet reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR).

Ordforklaringene ligger nedenfor hver tabell. For å kunne svare på en best mulig og korrekt måte, er flere engelske navn på signaleringsveier, kjernereseptorer, gen og proteiner forblitt på engelsk.

Oppsummeringstabellen inneholder funn fra celler/dyr som tilhører ulike arter (mus, rotter, mennesker og sebrafisk), og for enkelte funn i denne tabellen er positiv effekt på samme gen og protein slått sammen (det vil stå i tabellen der dette er tilfelle). Derfor er det valgt å presentere alle funnene i tabellen uten kursiv og i små bokstaver, uavhengig om det er snakk om protein eller gen, og uavhengig av type dyr/celle.

For mer utfyllende informasjon om enkeltfunn, henvises det til tidligere mer detaljerte tabeller, samt oppgaveteksten.

Funn	Cellestudier med positivt funn	Dyrestudier med positivt funn	Referanser
Effekt på lipidinnhold i celler/vev	DA↑ (x3) ↑ (x6)	DA↑ ↑ (x4)	(25, 56-59) (32, 42, 44, 47, 48) (35, 38, 53)
Effekt på triglyseridinnhold i celler/ vev	DA↑ (x4) ↑ (x2)	↑ (x4)	(32, 44, 47, 55, 57-60) (41, 51)
GE eller aktivitet til peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (ppary).	DA↑ (x3) ↑ (x3)	DA↑ ↑ (x2)	(38, 44, 47, 48, 57-60)
GE til lipoprotein lipase (lpl)	↑ (x2)	↑ (x5)	(37, 42, 47, 48, 50, 57, 59)
GE eller aktivitet til peroxisome proliferator-activated receptor- alpha (pparα)	DA↑ ↑ (x2)	↑ (x2)	(42, 43, 48, 58, 60)
GE til peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (acox1)	↑	↑ (x5)	(37, 39, 42, 43, 48, 60)
GE til stearoyl-CoA desaturase-1 (scd1)	↑	↑ (x4)	(32, 42, 44, 48, 60)
GE til fatty acid binding protein 4 (fabp4)	↑ (x4)	↑	(47, 57-59)
GE til CCAAT/enhancer binding protein α (cebpa)	DA↑ ↑ (x3)	↑	(47, 57-59)
GE til NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 (nqo1)	↑	↑ (x2)	(37, 47)
GE til fatty acid-binding protein 1 (fabp1)	↑	↑ (x2)	(42, 48)
GE til carnitinepalmitoyl transferase 1A (cpt1a)	↑	↑ (x2)	(35, 48)
PE eller GE til fatty acid translocase (fas)	↑	↑ (x2)	(32, 45, 50)
GE til sterol and regulatory element binding protein-1c (sreb1c)	↑(x2)	↑	(47, 51)
PE til fosforylert protein kinase B (p-akt)	↓	DA↓	(34, 55)
Effekt på celleantall eller celleproliferasjon	DA↑	↑	(39, 60)
Effekt på reaktive oksygen spesies (ros)	↑	↑	(42)
PE av markører relatert til ER-stress	↑	↑	(42)
Effekt på PFAS-indusert ER-stress ved samtidig bruk av ER-stress inhibitor	↓	↓	(42)
Effekt på PE av markører for autofagiakkumulering	↑	↑	(42)
GE til nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (nrf2) og glutamate-cysteine ligase (gclc)	↑	↑	(47)

Ordforklaringer: DA, doseavhengig; ER, endoplasmatisk retikulum; GE, genekspressjon; PE, protein ekspressjon; PFAS, per- og polyfluoreerte alkylstoffer; ↑, økt; ↓, redusert.

Tabeller 4: Epidemiologiske studier

For å svare på problemstillingen «Er det en kausal sammenheng mellom fedme og diabetes type 2 og miljøgifter», ble ti epidemiologiske studier som var relevant for oppgaven gjennomgått. Studiene undersøker om eksponering til per- og polyfluoreerte alkylstoffer (PFASer) er assosiert med diabetes, fedme eller metabolsk syndrom. Funnene fra dem presenteres i tabeller 4.1- 4.3:

- Tabell 4.1: Tversnittstudier
- Tabell 4.2: Kasus-kontrollstudier
- Tabell 4.3: Prospektive kohortstudier

Type populasjon presenteres i første kolonne, og generell indikerer en populasjon som ikke er i høyrisiko. Positive og negative funn er uthevet med fet skrift, og statistiske mål for hvert funn nevnes like under. Positive funn er funn som taler for problemstillingen, slik som økt blodglukose. Dose-respons-forhold er markert med rødt. Ordforklaringer nevnes under hver tabell.

Tabell 4.1: Tversnittstudier

Populasjon	Antall	Positive funn	Negative funn	Ref
Generell, ♂♀, ≥20 år.	7904	<p>Positiv assosiasjon mellom prevalent diabetes og PFOA for ♂ (dose-respons-forhold).</p> <ul style="list-style-type: none"> •OR: 2.66 (95% KI: 1.63-4.35), p=0.001. <p>Positiv assosiasjon mellom total kolesterol og PFOA for ♂ og ♀:</p> <ul style="list-style-type: none"> •% diff (♂) =1.43% (95% KI: 0.62%-2.34%), p<0.001. •% diff (♀) =1.07% (95% KI: 0.27%-1.97%), p= 0.001. 	<p>Ingen assosiasjon for ♀ og ♂ mellom PFOA og fastende s-glukose, fastende s-insulin, HOMA-IR, s-triglyserider, s-HDL, s-LDL, eller blodtrykk.</p> <p>Ingen assosiasjon mellom PFOS, PFHxS og PFNA til diabetes for ♀ og ♂.</p>	(61)
Generell, ♂, voksne.	148	<p>Positiv assosiasjon mellom metabolsk syndrom til PFNA og til n-PFOA.</p> <ul style="list-style-type: none"> •OR (n-PFOA) =29.4 (95% KI: 2.90-299.7), p<0.05. •OR (PFNA) =10.9 (95% KI: 2.00-59.1), p<0.05. <p>Positiv assosiasjon mellom PFNA til s-triglyserider, fedme og systolisk blodtrykk.</p> <ul style="list-style-type: none"> •OR (triglyserider) =13.2 (95% KI: 2.34-74.2), p=0.05. •OR (fedme) =13.3 (95% KI: 2.38-74.4), p<0.05. •OR (systolisk blodtrykk) =7.52 (95% KI: 1.34-42.1), p=0.05. <p>Median serumkonsentrasjon av n-PFOA og PFNA er høyere blant de med metabolsk syndrom enn de uten. (p<0.05)</p>	<p>Høyere serumkonsentrasjoner av PFDA, PFHxS og PFNA er assosiert med økt HDL.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β (PFDA)= 0.35 (95% KI: 0.05–0.65), p < 0.05. •β (PFHxS) = 0.34 (95% KI: 0.11–0.58), p < 0.01. •β (PFNA) = 0.43 (95% KI: 0.17–0.70), p < 0.01. 	(64)
Generell, ♂♀, ≥20 år.	786	<p>Positiv korrelasjon til s-total kolesterol for PFOS (p=0.05) og PFNA (p=0.04).</p> <p>Positiv korrelasjon til s-triglyserider (p=0.08) og s-LDL (p=0.06) for PFOS.</p> <p>Negativ korrelasjon til HDL for PFHxS (p<0.01).</p> <p>♂: Signifikant forskjell mellom de med hyperkolesterolemia i forhold til de med normale kolesterolverdier, for PFBS, PFNA og PFOS (p < 0.05).</p> <p>Pasienter med diabetes hadde høyere nivå av PFHxS og PFDoDA enn pasienter uten diabetes (p < 0.05).</p>	<p>Ingen signifikant korrelasjon mellom PFOA, PFOS, PFNA, PFHxS, PFBS og PFDoDA til overvekt og fedme.</p>	(62)
Generell, gravide kvinner.	628		<p>PFOA, PFNA og PFHxS er assosiert med lavere blodglukose hos mor under svangerskapet.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOA)= -0.025 (95% KI: -0.046, -0.004), p<0.05. •β(PFNA)= -0.025 (95% KI: -0.042, -0.009), p<0.05. 	(66)

			• β (PFHxS)=-0.023 (95% KI: -0.044, -0.002), p<0.05.	
Generell, ♂♀, voksne med økt risiko for diabetes type 2.	957	<p>PFOS og PFOA er assosiert med høyere HbA1c.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOS)=0.03 (95% KI: 0.002, 0.07), p=0.04. •β(PFOA)= 0.04 (95% KI: 0.001, 0.07), p=0.05. <p>PFOS og PFOA er assosiert med høyere fastende s-insulin</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOS)=1.37 (95% KI: 0.41, 2.34), p=0.00538. •β(PFOA)=2.26 (95% KI: 1.16, 3.35), p=0.00005. <p>PFOS og PFOA er assosiert med høyere fastende s-glukose.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOS)=0.55 (95% KI: 0.03, 1.06), p=0.04. •β(PFOA)= 0.66 (95% KI: 0.97, 1.24), p=0.03. 		(63)
Generell, ♂♀, 9-21 år.	369		<p>Konsentrasjon av PFOA som 21-åring er negativt assosiert med midjeomkrets.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β= -11.1 (95% KI: -19.89586, -1.36191), p=0.03 	(65)

Ordforklaringer: Diff, differanse; HbA1c, glykohemoglobin; HDL, high-density lipoproteiner; HOMA-IR, homeostatic model assessment for insulin resistance; KI, konfidens intervall; LDL, low-density lipoprotein; n-PFOA, lineær perfluoroktansyre; OR, odds ratio; P, P-verdi; PFBS, perfluorbutansulfonat; PFDoDA, perfluorododecanoic acid; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; Ref., referanse; s, serum; β , beta-koeffisient; ♂, menn; ♀, kvinner.

Tabell 4.2: Kasus-kontrollstudier

Populasjon	Antall	Positive funn	Negative funn	Ref.
Generell, ♀, voksne.	793	<p>Assosiasjon mellom PFOS og PFOA til insident diabetes type 2.</p> <ul style="list-style-type: none"> •OR(PFOS)= 1.62 (95% KI: 1.09, 2.41) p=0.02. •OR(PFOA)= 1.54 (95% KI: 1.04, 2.28), p=0.03. <p>Dose-respons-forhold mellom PFOS og diabetes type 2. (p=0.02)</p>	<p>Ingen assosiasjon til diabetes for PFDA, PFHxS og PFNA.</p>	(68)
Høyrisiko befolkning, ♂♀, tenåringer /unge voksne.	402	<p>PFOA assosiert med økt s-triglyserid.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(triglyserid) =0.14 (95% KI: 0.02, 0.27), p=0.03. <p>PFOA, PFOS, PFHxS og PFNA er assosiert med økt s-total kolesterol.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOA)= 0.09 (95% KI: 0.04, 0.14), p<0.001. •β(PFOS)= 0.08 (95% KI: 0.05, 0.12,) p< 0.001 •β(PFHxS)= 0.04(95% KI: 0.01, 0.06), p=0.01. •β(PFNA)= 0.05(95% KI: 0.01, 0.09), p=0.01 <p>PFOA, PFOS, PFHxS og PFNA er assosiert med økt LDL.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOA)=0.11 (95% KI: 0.03, 0.19), p=0.006. •β(PFOS)=0.10 (95% KI:0.05, 0.16) p<0.001. •β(PFHxS)= 0.07 (95% KI:0.01, 0.14) p=0.03. •β (PFNA)= 0.07 (95% KI:0.01, 0.14) p=0.03. 	<p>Ingen assosiasjon mellom BMI og PFOA, PFHxS, PFOS, PFNA, og PFDA.</p> <p>PFUnDA er assosiert med redusert risiko for overvekt.</p> <ul style="list-style-type: none"> •OR= 0.95 (95% KI: 0.91, 0.99), p=0.02. <p>PFOS, PFUnDA og PFDA er assosiert med økt HDL.</p> <ul style="list-style-type: none"> •β(PFOS)= 0.06 (95% KI: 0.003, 0.13), p=0.04. •β(PFUnDA)= 0.04 (95% KI: 0.01, 0.07), p=0.001. •β(PFDA)= 0.05 (95% KI: 0.02, 0.09), p=0.003. <p>PFHxS er assosiert med redusert insulinresistens (HOMA-IR).</p> <ul style="list-style-type: none"> •β= -0.09 (95% KI: -0.18, -0.003), p=0.04. 	(67)

Ordforklaringer: BMI, body mass index; HDL, high-density lipoproteiner; HOMA-IR, homeostatic model assessment for insulin resistance; KI, konfidensintervall; LDL, low-density lipoprotein; OR, odds ratio; P, p-verdi; PFDA, perfluordekansyre; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluoronansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; PFUnDA, perfluoroundecanoic; Ref., referanse; s, serum; β, beta-koeffisient; ♂, menn; ♀, kvinner.

Tabell 4.3: Prospektive kohortstudier

Populasjon	Antall	Positive funn	Negative funn	Ref.
Generell, gravide og deres barn (♂♀, 5 år).	412 mor-barn-par	Høyere konsentrasjon av PFOA og PFOS hos mor under svangerskapet, gir økt risiko for overvekt/fedme ved femårsalderen til barnet. •OR (PFOS) = 2.04 (95% KI: 1.11–3.74), p<0.05. •OR (PFOA) =1.61 (95% KI: 0.75–3.46), p<0.05		(70)
Generell, gravide og deres barn (♂♀, median 7,7 år).	682 mor-barn-par		Assosiasjon mellom serumnivå av PFOA hos mor under svangerskapet til høyere HDL og lavere triglyserider hos ♀-barn når de er median 7,7 år. •β(HDL)=1.2 (95% KI: -0.8, -3.2), p= 0.03. •β(triglyserider)= -4.2 (95% KI: -9.2, 0.8), p = 0.04. Assosiasjon mellom serumnivå av MeFOSAA hos mor under svangerskapet til lavere ALAT hos ♀-barn når de er median 7,7 år. •β = -1.2 (95% KI: -1.9, -0.5), p = 0.05.	(69)
Generell, gravide og deres nyfødte barn.	628 mødre	Morens konsentrasjon av PFOA og PFNA er assosiert med lavere fødselsvekt. •β(PFOA)= -92.4 (95% KI: -166.2, -18.5), p<0.05. •β(PFNA)= -92.1 (95% KI: -150.6, -33.6), p<0.05.	Morens konsentrasjon av PFOA, PFNA og PFHxS er assosiert med mindre fedme hos de nyfødte barna. •β(PFOA)= -0.97 (95% KI: -1.74, -0.20), p<0.05. •β(PFNA)= -0.85 (95% KI: -1.46, -0.24), p<0.05. •β(PFHxS)= -0.99 (95% KI: -1.75, -0.23), p<0.05.	(66)
Generell, ♂♀, voksne med økt risiko for diabetes type 2.	957		Ingen sterk assosiasjon mellom PFOA og PFOS til insident diabetes type 2.	(63)
Generell, ♂♀, 9-21 år.	369	PFOS-nivåer som niåring er assosiert med økt BMI, hudfoldtykkelse og midjeomkrets ved 15-årsalderen. PFOA-nivåer som niåring er assosiert med redusert betacellefunksjon (HOMA-β) ved 15-årsalderen. PFOS-nivåer som niåring er assosiert med økt hudfoldtykkelse og midjeomkrets ved 21-årsalderen. •p<0.05. β oppgis ikke.		(65)

Ordforklaringer: ALAT, alanin aminotransferase; BMI, body mass index; HDL, high-density lipoproteiner; HOMA- β , homeostasis model assessment of β -cell function; KI, konfidens intervall; MeFOSAA, 2-(N-methyl-perfluorooctane sulfonamido) acetate; OR, odds ratio; P, p-verdi; PFHxS, perfluorheksansulfonat; PFNA, perfluornonansyre; PFOA, perfluoroktansyre; PFOS, perfluoroktansulfonat; Ref., referanse; β , beta-koeffisient; ♂, menn; ♀, kvinner.

Referanseliste

1. Løvås K, Husebye E. Endokrinologi. 2 ed. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS; 2017. 57, 72-6, 82-3 p.
2. Obesity and overweight, fact sheet: WHO; 2016 [updated june 2016; cited 2017 25.06]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.
3. Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. Annual review of physiology. 2011;73:135-62.
4. Diabetes, Fact sheet: WHO; 2016 [updated November 2016; cited 2017 25.06]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>.
5. Hectors TL, Vanparys C, van der Ven K, Martens GA, Jorens PG, Van Gaal LF, et al. Environmental pollutants and type 2 diabetes: a review of mechanisms that can disrupt beta cell function. Diabetologia. 2011;54(6):1273-90.
6. Nasjonal faglig retningslinje for diabetes, Diagnostikk av diabetes, risikovurdering og oppfølging av personer med høy risiko for å utvikle diabetes: Helsedirektoratet; [cited 2017 25.06]. Available from: <https://helsedirektoratet.no/retningslinjer/diabetes/seksjon?Tittel=diagnostikk-av-diabetes-risikovurdering-2679#anbefalte-analyser-ved-klinisk-mistanke-om-diabetes-eller-klinisk-hoy-risiko-for-diabetes-type-2>.
7. Taylor KW, Novak RF, Anderson HA, Birnbaum LS, Blystone C, Devito M, et al. Evaluation of the association between persistent organic pollutants (POPs) and diabetes in epidemiological studies: a national toxicology program workshop review. Environmental health perspectives. 2013;121(7):774-83.
8. Meigs JB. The metabolic syndrome (insulin resistance syndrome or syndrome X). UpToDate; [updated 13.01.17; cited 2017 25.06]. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/the-metabolic-syndrome-insulin-resistance-syndrome-or-syndrome-x#H2435699>
9. Jaacks LM, Staimez LR. Association of persistent organic pollutants and non-persistent pesticides with diabetes and diabetes-related health outcomes in Asia: A systematic review. Environment international. 2015;76:57-70.
10. Magliano DJ, Loh VH, Harding JL, Botton J, Shaw JE. Persistent organic pollutants and diabetes: a review of the epidemiological evidence. Diabetes & metabolism. 2014;40(1):1-14.
11. PFOS, PFOA og andre PFAS-er: Miljødirektoratet; 2017 [updated 09.06.17; cited 2017 06.07]. Available from: <http://www.miljostatus.no/tema/kjemikalier/prioritetslisten/PFOS-PFOA-og-andre-PFCs/>.
12. Hill AB. The Environment and Disease: Association or Causation. Proc R Soc Med. 1965;58(5):295-300.
13. Katz D, Elmore J, Wild D, Lucan S. Jekel's epidemiology, biostatistics, preventive medicine, and public health. 4 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. 50-65 p.
14. Miljøgifter: Miljødirektoratet; 2017 [updated 09.06.17; cited 2017 05.07]. Available from: <http://www.miljostatus.no/tema/kjemikalier/>.
15. Pedersen B. Kjemikalier. Oslo: Store norske leksikon; 2017 [updated 20.02.17; cited 2017 05.07]. Available from: <https://snl.no/kjemikalier>.
16. Pedersen B. Miljøgift. Oslo: Store norske leksikon; 2017 [updated 14.04.17; cited 2017 05.07]. Available from: <https://snl.no/milj%C3%B8gift>.
17. Miljøstatus i Norge, miljøutfordringer før og nå. Oslo: Miljødirektoratet; 2016 [cited 2016 27.09]. Available from:

<http://www.miljostatus.no/contentassets/6af1e902645040faaaa703673f001ec4/klif-brosjyre-trykk.pdf>.

18. Spredning av miljøgifter: Miljødirektoratet; 2017 [updated 09.06.17; cited 2017 05.07]. Available from: www.miljostatus.no/tema/kjemikalier/spredning-av-miljogifter/.
19. Forurenset grunn: Miljødirektoratet; 2017 [updated 09.06.17; cited 2017 05.07]. Available from: <http://www.miljostatus.no/tema/kjemikalier/forurenset-grunn/>
20. Fluorerte forbindelser i kjemikalier: Folkehelseinstituttet; [updated 24.02.16; cited 2017 06.07]. Available from: <https://fhi.no/nettpub/mihe/kjemikalier/fluorerte-forbindelser/>.
21. Källqvist T. Litteraturstudie, Miljørisiko ved perfluorerte alkylstoffer Oslo: Miljødirektoratet; 2007 [updated 27.11.06; cited 2017 06.07]. Available from: <http://www.miljodirektoratet.no/old/klif/publikasjoner/2267/ta2267.pdf>.
22. Nost TH, Vestergren R, Berg V, Nieboer E, Odland JO, Sandanger TM. Repeated measurements of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) from 1979 to 2007 in males from Northern Norway: assessing time trends, compound correlations and relations to age/birth cohort. *Environment international*. 2014;67:43-53.
23. Poothong S, Thomsen C, Padilla-Sanchez JA, Papadopoulou E, Haug LS. Distribution of Novel and Well-Known Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in Human Serum, Plasma, and Whole Blood. *Environmental science & technology*. 2017;51(22):13388-96.
24. Bost PC, Strynar MJ, Reiner JL, Zweigenbaum JA, Secoura PL, Lindstrom AB, et al. U.S. domestic cats as sentinels for perfluoroalkyl substances: Possible linkages with housing, obesity, and disease. *Environmental research*. 2016;151:145-53.
25. Mahapatra CT, Damayanti NP, Guffey SC, Serafin JS, Irudayaraj J, Sepulveda MS. Comparative in vitro toxicity assessment of perfluorinated carboxylic acids. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2017;37(6):699-708.
26. Johnson PI, Sutton P, Atchley DS, Koustas E, Lam J, Sen S, et al. The Navigation Guide - evidence-based medicine meets environmental health: systematic review of human evidence for PFOA effects on fetal growth. *Environmental health perspectives*. 2014;122(10):1028-39.
27. Steenland K, Zhao L, Winqvist A, Parks C. Ulcerative colitis and perfluorooctanoic acid (PFOA) in a highly exposed population of community residents and workers in the mid-Ohio valley. *Environmental health perspectives*. 2013;121(8):900-5.
28. Melzer D, Rice N, Depledge MH, Henley WE, Galloway TS. Association between serum perfluorooctanoic acid (PFOA) and thyroid disease in the U.S. National Health and Nutrition Examination Survey. *Environmental health perspectives*. 2010;118(5):686-92.
29. Frisbee SJ, Shankar A, Knox SS, Steenland K, Savitz DA, Fletcher T, et al. Perfluorooctanoic acid, perfluorooctanesulfonate, and serum lipids in children and adolescents: results from the C8 Health Project. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*. 2010;164(9):860-9.
30. Giulivo M, Lopez de Alda M, Capri E, Barcelo D. Human exposure to endocrine disrupting compounds: Their role in reproductive systems, metabolic syndrome and breast cancer. A review. *Environmental research*. 2016;151:251-64.
31. Legler J, Hamers T, van Eck van der Sluijs-van de Bor M, Schoeters G, van der Ven L, Eggesbo M, et al. The OBELIX project: early life exposure to endocrine disruptors and obesity. *The American journal of clinical nutrition*. 2011;94(6 Suppl):1933s-8s.
32. Das KP, Wood CR, Lin MT, Starkov AA, Lau C, Wallace KB, et al. Perfluoroalkyl acids-induced liver steatosis: Effects on genes controlling lipid homeostasis. *Toxicology*. 2017;378:37-52.
33. Fibrater. Oslo: Foreningen for utgivelse av Norsk legemiddelhandbok; 2017 [updated 25.01.17; cited 2018 12.05]. Available from: <http://legemiddelhandboka.no/Legemidler/66750?expand=1>
34. Du G, Sun J, Zhang Y. Perfluorooctanoic acid impaired glucose homeostasis through affecting adipose AKT pathway. *Cytotechnology*. 2018;70(1):479-87.

35. Wang L, Wang Y, Liang Y, Li J, Liu Y, Zhang J, et al. PFOS induced lipid metabolism disturbances in BALB/c mice through inhibition of low density lipoproteins excretion. *Scientific reports*. 2014;4:4582.
36. Kumar V, Abbas A, Aster J. *Robbins Basic Pathology*. 9 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. 621-6 p.
37. Tan X, Xie G, Sun X, Li Q, Zhong W, Qiao P, et al. High fat diet feeding exaggerates perfluorooctanoic acid-induced liver injury in mice via modulating multiple metabolic pathways. *PloS one*. 2013;8(4):e61409.
38. Wang L, Wang Y, Liang Y, Li J, Liu Y, Zhang J, et al. Specific accumulation of lipid droplets in hepatocyte nuclei of PFOA-exposed BALB/c mice. *Scientific reports*. 2013;3:2174.
39. Oshida K, Vasani N, Jones C, Moore T, Hester S, Nesnow S, et al. Identification of chemical modulators of the constitutive activated receptor (CAR) in a gene expression compendium. *Nuclear receptor signaling*. 2015;13:e002.
40. Yan S, Zhang H, Zheng F, Sheng N, Guo X, Dai J. Perfluorooctanoic acid exposure for 28 days affects glucose homeostasis and induces insulin hypersensitivity in mice. *Scientific reports*. 2015;5:11029.
41. Wu X, Xie G, Xu X, Wu W, Yang B. Adverse bioeffect of perfluorooctanoic acid on liver metabolic function in mice. *Environmental science and pollution research international*. 2018;25(5):4787-93.
42. Yan S, Zhang H, Wang J, Zheng F, Dai J. Perfluorooctanoic acid exposure induces endoplasmic reticulum stress in the liver and its effects are ameliorated by 4-phenylbutyrate. *Free radical biology & medicine*. 2015;87:300-11.
43. Abe T, Takahashi M, Kano M, Amaike Y, Ishii C, Maeda K, et al. Activation of nuclear receptor CAR by an environmental pollutant perfluorooctanoic acid. *Archives of toxicology*. 2017;91(6):2365-74.
44. Bagley BD, Chang SC, Ehresman DJ, Eveland A, Zitzow JD, Parker GA, et al. Perfluorooctane Sulfonate-Induced Hepatic Steatosis in Male Sprague Dawley Rats Is Not Attenuated by Dietary Choline Supplementation. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2017;160(2):284-98.
45. Wu X, Liang M, Yang Z, Su M, Yang B. Effect of acute exposure to PFOA on mouse liver cells in vivo and in vitro. *Environmental science and pollution research international*. 2017;24(31):24201-6.
46. Fang X, Gao G, Zhang X, Wang H. Perfluorononanoic acid disturbed the metabolism of lipid in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *Toxicology mechanisms and methods*. 2015;25(8):622-7.
47. Xu J, Shimpi P, Armstrong L, Salter D, Slitt AL. PFOS induces adipogenesis and glucose uptake in association with activation of Nrf2 signaling pathway. *Toxicology and applied pharmacology*. 2016;290:21-30.
48. Yan S, Wang J, Dai J. Activation of sterol regulatory element-binding proteins in mice exposed to perfluorooctanoic acid for 28 days. *Archives of toxicology*. 2015;89(9):1569-78.
49. Shabalina IG, Kramarova TV, Mattsson CL, Petrovic N, Rahman Qazi M, Csikasz RI, et al. The Environmental Pollutants Perfluorooctane Sulfonate and Perfluorooctanoic Acid Upregulate Uncoupling Protein 1 (UCP1) in Brown-Fat Mitochondria Through a UCP1-Dependent Reduction in Food Intake. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2015;146(2):334-43.
50. Wan HT, Zhao YG, Leung PY, Wong CK. Perinatal exposure to perfluorooctane sulfonate affects glucose metabolism in adult offspring. *PloS one*. 2014;9(1):e87137.
51. Lv Z, Li G, Li Y, Ying C, Chen J, Chen T, et al. Glucose and lipid homeostasis in adult rat is impaired by early-life exposure to perfluorooctane sulfonate. *Environmental toxicology*. 2013;28(9):532-42.
52. Ngo HT, Hetland RB, Sabaredzovic A, Haug LS, Steffensen IL. In utero exposure to perfluorooctanoate (PFOA) or perfluorooctane sulfonate (PFOS) did not increase body weight or

- intestinal tumorigenesis in multiple intestinal neoplasia (Min/+) mice. *Environmental research*. 2014;132:251-63.
53. van Esterik JC, Bastos Sales L, Dolle ME, Hakansson H, Herlin M, Legler J, et al. Programming of metabolic effects in C57BL/6JxFVB mice by in utero and lactational exposure to perfluorooctanoic acid. *Archives of toxicology*. 2016;90(3):701-15.
54. Lai KP, Li JW, Cheung A, Li R, Billah MB, Chan TF, et al. Transcriptome sequencing reveals prenatal PFOS exposure on liver disorders. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2017;223:416-25.
55. Qiu T, Chen M, Sun X, Cao J, Feng C, Li D, et al. Perfluorooctane sulfonate-induced insulin resistance is mediated by protein kinase B pathway. *Biochemical and biophysical research communications*. 2016;477(4):781-5.
56. Bastos Sales L, Kamstra JH, Ceniñ PH, van Rijt LS, Hamers T, Legler J. Effects of endocrine disrupting chemicals on in vitro global DNA methylation and adipocyte differentiation. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*. 2013;27(6):1634-43.
57. Yamamoto J, Yamane T, Oishi Y, Kobayashi-Hattori K. Perfluorooctanoic acid binds to peroxisome proliferator-activated receptor gamma and promotes adipocyte differentiation in 3T3-L1 adipocytes. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2015;79(4):636-9.
58. Li CH, Ren XM, Ruan T, Cao LY, Xin Y, Guo LH, et al. Chlorinated Polyfluorinated Ether Sulfonates Exhibit Higher Activity toward Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Signaling Pathways than Perfluorooctanesulfonate. *Environmental science & technology*. 2018;52(5):3232-9.
59. Ma Y, Yang J, Wan Y, Peng Y, Ding S, Li Y, et al. Low-level perfluorooctanoic acid enhances 3 T3-L1 preadipocyte differentiation via altering peroxisome proliferator activated receptor gamma expression and its promoter DNA methylation. *Journal of applied toxicology : JAT*. 2018;38(3):398-407.
60. Watkins AM, Wood CR, Lin MT, Abbott BD. The effects of perfluorinated chemicals on adipocyte differentiation in vitro. *Molecular and cellular endocrinology*. 2015;400:90-101.
61. He X, Liu Y, Xu B, Gu L, Tang W. PFOA is associated with diabetes and metabolic alteration in US men: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2012. *The Science of the total environment*. 2018;625:566-74.
62. Seo SH, Son MH, Choi SD, Lee DH, Chang YS. Influence of exposure to perfluoroalkyl substances (PFASs) on the Korean general population: 10-year trend and health effects. *Environment international*. 2018;113:149-61.
63. Cardenas A, Gold DR, Hauser R, Kleinman KP, Hivert MF, Calafat AM, et al. Plasma Concentrations of Per- and Polyfluoroalkyl Substances at Baseline and Associations with Glycemic Indicators and Diabetes Incidence among High-Risk Adults in the Diabetes Prevention Program Trial. *Environmental health perspectives*. 2017;125(10):107001.
64. Yang Q, Guo X, Sun P, Chen Y, Zhang W, Gao A. Association of serum levels of perfluoroalkyl substances (PFASs) with the metabolic syndrome (MetS) in Chinese male adults: A cross-sectional study. *The Science of the total environment*. 2018;621:1542-9.
65. Domazet SL, Grontved A, Timmermann AG, Nielsen F, Jensen TK. Longitudinal Associations of Exposure to Perfluoroalkylated Substances in Childhood and Adolescence and Indicators of Adiposity and Glucose Metabolism 6 and 12 Years Later: The European Youth Heart Study. *Diabetes care*. 2016;39(10):1745-51.
66. Starling AP, Adgate JL, Hamman RF, Kechris K, Calafat AM, Ye X, et al. Perfluoroalkyl Substances during Pregnancy and Offspring Weight and Adiposity at Birth: Examining Mediation by Maternal Fasting Glucose in the Healthy Start Study. *Environmental health perspectives*. 2017;125(6):067016.
67. Koshy TT, Attina TM, Ghassabian A, Gilbert J, Burdine LK, Marmor M, et al. Serum perfluoroalkyl substances and cardiometabolic consequences in adolescents exposed to the World Trade Center disaster and a matched comparison group. *Environment international*. 2017;109:128-35.

68. Sun Q, Zong G, Valvi D, Nielsen F, Coull B, Grandjean P. Plasma Concentrations of Perfluoroalkyl Substances and Risk of Type 2 Diabetes: A Prospective Investigation among U.S. Women. *Environmental health perspectives*. 2018;126(3):037001.
69. Mora AM, Fleisch AF, Rifas-Shiman SL, Woo Baidal JA, Pardo L, Webster TF, et al. Early life exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and mid-childhood lipid and alanine aminotransferase levels. *Environment international*. 2018;111:1-13.
70. Lauritzen HB, Larose TL, Oien T, Sandanger TM, Odland JO, van de Bor M, et al. Prenatal exposure to persistent organic pollutants and child overweight/obesity at 5-year follow-up: a prospective cohort study. *Environmental health : a global access science source*. 2018;17(1):9.
71. van den Dungen MW, Murk AJ, Kok DE, Steegenga WT. Persistent organic pollutants alter DNA methylation during human adipocyte differentiation. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*. 2017;40:79-87.
72. Sant KE, Jacobs HM, Borofski KA, Moss JB, Timme-Laragy AR. Embryonic exposures to perfluorooctanesulfonic acid (PFOS) disrupt pancreatic organogenesis in the zebrafish, *Danio rerio*. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*. 2017;220(Pt B):807-17.
73. Shabalina IG, Kalinovich AV, Cannon B, Nedergaard J. Metabolically inert perfluorinated fatty acids directly activate uncoupling protein 1 in brown-fat mitochondria. *Archives of toxicology*. 2016;90(5):1117-28.
74. Palmer CN, Hsu MH, Griffin KJ, Raucy JL, Johnson EF. Peroxisome proliferator activated receptor-alpha expression in human liver. *Molecular pharmacology*. 1998;53(1):14-22.
75. Rappazzo KM, Coffman E, Hines EP. Exposure to Perfluorinated Alkyl Substances and Health Outcomes in Children: A Systematic Review of the Epidemiologic Literature. *International journal of environmental research and public health*. 2017;14(7).
76. Maglich JM, Parks DJ, Moore LB, Collins JL, Goodwin B, Billin AN, et al. Identification of a novel human constitutive androstane receptor (CAR) agonist and its use in the identification of CAR target genes. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(19):17277-83.
77. Krasowski MD, Yasuda K, Hagey LR, Schuetz EG. Evolution of the pregnane x receptor: adaptation to cross-species differences in biliary bile salts. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2005;19(7):1720-39.
78. Wens B, De Boever P, Verbeke M, Hollanders K, Schoeters G. Cultured human peripheral blood mononuclear cells alter their gene expression when challenged with endocrine-disrupting chemicals. *Toxicology*. 2013;303:17-24.
79. Sant KE, Jacobs HM, Xu J, Borofski KA, Moss LG, Moss JB, et al. Assessment of Toxicological Perturbations and Variants of Pancreatic Islet Development in the Zebrafish Model. *Toxics*. 2016;4(3).
80. Lee DH, Lind PM, Jacobs DR, Jr., Salihovic S, van Bavel B, Lind L. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in plasma predict development of type 2 diabetes in the elderly: the prospective investigation of the vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS) study. *Diabetes care*. 2011;34(8):1778-84.
81. Manzano-Salgado CB, Casas M, Lopez-Espinosa MJ, Ballester F, Basterrechea M, Grimalt JO, et al. Transfer of perfluoroalkyl substances from mother to fetus in a Spanish birth cohort. *Environmental research*. 2015;142:471-8.
82. Braun JM. Early-life exposure to EDCs: role in childhood obesity and neurodevelopment. *Nature reviews Endocrinology*. 2017;13(3):161-73.
83. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Jr., Lee DH, et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine reviews*. 2012;33(3):378-455.
84. Airaksinen R, Rantakokko P, Eriksson JG, Blomstedt P, Kajantie E, Kiviranta H. Association between type 2 diabetes and exposure to persistent organic pollutants. *Diabetes care*. 2011;34(9):1972-9.

85. Lee DH, Lee IK, Porta M, Steffes M, Jacobs DR, Jr. Relationship between serum concentrations of persistent organic pollutants and the prevalence of metabolic syndrome among non-diabetic adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Diabetologia*. 2007;50(9):1841-51.
86. Zhang Z, Li S, Liu L, Wang L, Xiao X, Sun Z, et al. Environmental exposure to BDE47 is associated with increased diabetes prevalence: Evidence from community-based case-control studies and an animal experiment. *Scientific reports*. 2016;6:27854.
87. Polyklorerte bifenyler (PCB) Miljødirektoratet; 2017 [updated 09.06.17; cited 2018 18.05]. Available from: www.miljostatus.no/tema/kjemikalier/prioritetslisten/pcb/.
88. Bromerte flammehemmere: Miljødirektoratet; 2017 [updated 06.06.17; cited 2018 19.05]. Available from: www.miljostatus.no/tema/kjemikalier/prioritetslisten/bromerte-flammehemmere/.
89. Lind L, Salihovic S, Lampa E, Lind PM. Mixture effects of 30 environmental contaminants on incident metabolic syndrome-A prospective study. *Environment international*. 2017;107:8-15.
90. Mailloux R, Fu A, Florian M, Petrov I, Chen Q, Coughlan MC, et al. A Northern contaminant mixture impairs pancreas function in obese and lean JCR rats and inhibits insulin secretion in MIN6 cells. *Toxicology*. 2015;334:81-93.
91. Mailloux RJ, Florian M, Chen Q, Yan J, Petrov I, Coughlan MC, et al. Exposure to a northern contaminant mixture (NCM) alters hepatic energy and lipid metabolism exacerbating hepatic steatosis in obese JCR rats. *PloS one*. 2014;9(9):e106832.
92. Cousins IT, Vestergren R, Wang Z, Scheringer M, McLachlan MS. The precautionary principle and chemicals management: The example of perfluoroalkyl acids in groundwater. *Environment international*. 2016;94:331-40.
93. Olerud K. Førre var-prinsippet: Store Norske leksikon; 2014 [updated 12.12.14; cited 2018 30.05]. Available from: [https://snl.no/førre var-prinsippet](https://snl.no/førre_var-prinsippet).

Vedlegg: Artikkelsammendrag

Referanse: He, X.Liu, Y.Xu, B.Gu, L.Tang, W. PFOA is associated with diabetes and metabolic alteration in US men: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2012. <i>Sci Total Environ.</i> 2018; 625:566-574.			Design: Tversnittstudie	
			Dokumentasjonsnivå	III
			Grade:	Lav-svært lav
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer	
<p>Undersøke om assosiasjon mellom PFOA, PFOS, PFHxS og PFNA til prevalens diabetes mellitus (DM). Undersøke om PFOA er assosiert med metabolitt-konsentrasjoner i blod.</p> <p>Konklusjon</p> <p>Serum-PFOA er positivt assosiert med DM i menn, og totalkolesterol (t-kol) i begge kjønn.</p>	<p>Datagrunnlag: Data fra fra National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). (Om NHANES: Generelle U.S. befolkning melder seg frivillig på studien. Hver deltager møter opp på et «mobilt undersøkelses-senter», for prøvetakning og fysisk undersøkelse, samt intervju. Pågått over flere år). 7904 valgt ut til denne studien av totalt 24,146 deltagere de siste 10 årene, se eksklusjonskriteriene.</p> <p>Eksklusjonskriterier: Manglende informasjon om PFAS, gravide og <20 år.</p> <p>Hovedutfall: Prevalens av DM (7739 av de 7904 deltagerne i studien er med i DM-analysen. 11,8% menn og 11,6% damer av de 7739 har diabetes).</p> <p>Sekundære utfall: Fastende s-insulin (n=3826 av de 7904) fastende s-glukose (n=3846), HOMA-IR (n=3821), t-KOL (n=7901), TG (n=3848), HDL (n=7900), LDL (n=3747) blodtrykk (BT) (n=7543)</p> <p>Inklusjonskriterie for å ha DM: deltagere spurt av en intervjuer fra NHANES om de noen gang hadde blitt fortalt av en lege eller annet helsepersonell at de hadde diabetes eller «sukker-diabetes», bortsett fra under svangerskap. Svarer de ja, klassifiseres de som å ha diabetes.</p> <p>Kovariabler: Alder, rase, BMI, utdanningsnivå, energi-inntak, serum-continine (tobakkmærker), alkoholinntak, fattighet-inntekt-ratio (kontrollerer for inflasjon og familiestørrelse), og tid foran tv/videospill/PC (timer pr dag de siste 30 dager). Info innhentes fra NHANES-spørreskjema.</p> <p>Statistikk: Hovedutfall: Multivariabel logistisk regresjon justert for alle kovariabler. Sekundære utfall: Multivariabel generalisert lineær regresjon og oppgis som estimert prosent-forskjell (%diff).</p>	<p>Hovedfunn:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Positiv assosiasjon hos menn, mellom DM-prevalens og PFOA-konsentrasjonskvartil (Q) 2, 3, og 4 i forhold til kvartil 1: Q2 OR= 2.13, 95% CI: 1.30, 3.46. Q3 OR= 2.44, 95% CI: 1.49, 3.98. Q4 OR= 2.67, 95% CI: 1.63, 4.38. P for trend= 0.001. Dose-respons assosiasjon. •DM ikke relatert til PFOS, PFHxS eller PFNA (ikke for damer eller menn). <p>Bifunn:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Positiv assosiasjon var observert hos menn og damer, mellom t-kol og høyeste PFOA-konsentrasjonskvartiler (Q) i forhold til kvartil 1: <ul style="list-style-type: none"> o stratifisert for kjønn: menn i Q4 hadde OR=1.43%, 95% CI: 0.62%-2.34%, p-verdi <0,001. Damer i Q4 hadde OR= 1.07%, 95% CI: 0.27%-1.97%, p-verdi =0.001. o I tillegg stratifisert for alder: sterk assosiasjon for menn 40-50 år (Q4 % diff= 2.88%, 95% CI: 0.89%, 4.91%, p=0.004) og for menn 50-60 år (Q4 % diff= 2.52%, 95% CI: 0.44%, 4.73%, p=0.002) og for damer 60-70 år: (Q4 % diff= 2.88%, 95% CI: 0.80%, 5.00%, p=0.006). •Ingen signifikant assosiasjon mellom PFOA og andre metabolitter (de sekundære utfallene) •Målbare serumnivå av PFOA, PFOS, PFHxS og PFNA i >98% av deltagerne mellom 2003-12. Median konsentrasjon (ng/mL) for PFOA er 4.50 (menn) og 3.46 (damer). PFOS: 20.80 (menn) og 14.51 (damer). PFHxS: 2.88 (menn) og 1.94 PFNA 1.52 (menn) og 1.30 (Damer). 	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Er problemstillingen klart formulert? Ja. •Er studiedesignet en velegnet metode for å besvare problemstilling? Kan se om assosiasjon, men kan ikke utelukke «reverse causation» (kom eksponering før DM eller motsatt). •Er befolkningen som utvalget er tatt fra, klart definert? Info om studiepopulasjonens alder, kjønn, rase, utdanning. Oppgis ikke subgrupper i befolkningen som ikke dekkes. •Ble utvalget inkludert i studien på en tilfredsstillende måte? Frivillig rekruttering fra en generell befolkning i USA (?). •Er svarprosenten høy nok? 98% av de totalt 7904 deltagerne er med i analysen om DM, og 99.9% for t-kol. <4000 av de totalt 7904 deltagerne er med i analysene for TG, LDL, insulin, glukose og HOMA-IR. •Er det gjort rede for om respondentene skiller seg fra dem som ikke har respondert? Det var ikke nok informasjon å hente fra NHANES om de som ikke er inkludert av de totalt 7904 deltagerne per undersøkelse (dvs. DM, BT, t-kol osv) •Bruker studien målemetoder som er pålitelige (valide) for det man ønsker å måle? Ja for måling av PFASs. Uklart om spørreskjema/intervju fra NHANES er validert. •Er datainnsamlingen standardisert? Ja, analysen av serum-PFAS. Uklart for blodprøvetaking, intervju/spørreskjema, og fysisk undersøkelse. •Er dataanalysen standardisert? Uklart. •Hva er resultatene i denne studien? PFOA assosiert med DM hos menn, og t-kol. •Kan resultatene skyldes tilfeldigheter? Signifikante P-verdi, relativt smale KI oppgis. •Sammenfaller resultatene i denne studien med resultatene i andre tilgjengelige studier? Studier rapporterer om tvetydige funn ang. DM og målte metabolitter i blodet. Forskjell mellom kjønn og DM påvist i denne studien, mens få andre studier rapporterer om kjønnsforskjell. •Styrke: Stor populasjon, generell PFAS-eksponering. Er gjort analyse med flere kovariabler som kan ha effekt på DM-utvikling. Flere separate analyser stratifisert på alder og kjønn. •Svakhet: Selvrapportering om DM. DM1 eller DM2 fremkommer ikke. Andre konfundere, slik som redusert filtrasjonsrate (GFR) i nyre hos DM-pasienter. Andre miljøgifter som mulige konfundere. 	
Land	USA			
År data innsamling	2003-2012.			

Referanse: Koshy, T. T. Attina, T. M. Ghassabian, A. Gilbert, J. Burdine, L. K. Marmor, M. et al. Serum perfluoroalkyl substances and cardiometabolic consequences in adolescents exposed to the World Trade Center disaster and a matched comparison group. <i>Environ Int.</i> 2017; 109: 128-135. Doi: 10.1016/j.envint.2017.08.003		Design: Matched kasus-kontroll	
		Dokumentasjonsnivå	III
		Grade:	Svært lav
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer
<p>Høyrisiko befolkning (tenåringer, unge voksne): Undersøke om assosiasjon mellom serum-PFAS og kardiometabolske profil (inkluderer: BMI, insulin-resistans, fastene total-kolesterol (t-kol), HDL, LDL og triglyserid (TG), samt arteriell veggstivhet)</p> <p>Konklusjon</p> <p>PFAS er assosiert med økt TG, t-kol, og LDL, samt redusert insulin resistanse og påvirket veggstivhet til arteria brachialis. PFAS: Potensiell risikofaktor for atherosklerose.</p> <p>Land</p> <p>USA</p> <p>Ar data innsamling</p> <p>15 år etter WTC-katastrofen i 2001</p>	<p>World Trade Center (WTC)-gruppe: Deltagere fra World Trade Center Health Registry (WTCHR). Rekruttert via New York City Department of Health ved bruk av mail, email, telefon og in-personkontakt. Inklusjonskriterie: Bosatt og født i New York mellom 11.09.93- 10.09.01. 939 av deltagerne i WTCHR får spørsmål om å delta i denne studien; 243 (25%) deltar, og 26% av disse 243 fullfører ikke.</p> <p>Sosiodemografisk-matched kontroll-gruppe: Inklusjonskriteriet er personer som ikke kan bli deltagere i WTCHR pga. deres lokalisjon den 9.11.01 (dvs. avstand mellom WTC og til deres hjem, skole eller arbeid). I tillegg ikke inkludert de som bidro i hjelpearbeid og oppbyggingsaktiviteter i etterkant av WTC-katastrofen. Brukte «WTCHR's 2011–12 survey cycle» for å finne matched gruppe, matched på: alder, kjønn, rase, etnisitet og inntekt. 40% rekruttert fra klinikker/privat praksiserende, 43% via email, reklame, sosial media, flyveblader, og 17% henvist fra andre. 651 rekruttert, og 222 deltar til slutt (34%)</p> <p>Eksklusjon begge grupper: Kan ikke gjennomføre prosedyre for å måle arteriell stivhet, alvorlig lunge/hjerte sykdom, hjerte/lunge kirurgi, og gravide.</p> <p>Antall: Totalt 402. Serumprøver fra 308 (123 i WTCHR gruppe og 185 i den matchede gruppen).</p> <p>Gjennomførelse: Besøker skoler i ulike områder der de har rekruttert deltagere. Deltagere bedt om å faste 6 timer før, og unngå mat, koffein-produkter, og sukkerdrikker. Måler fastende blodprøve (lipider, glukose, insulin, PFAS), antropometriske målinger (vekt, høyde, BMI, og arteriell stivhet/dysfunksjon (brachial artery distensibility (BrachD), Alx Augmentation Index, PWV (pulse wave velocity)). Selvrappoterings via validert spørreskjema (for diett og fysisk aktivitet).</p> <p>Kovariabler: Rase, kjønn, røyk, BMI, kaloriinntak, fysisk aktivitet.</p> <p>Statistikk: Multiplere lineær og logistisk regresjonsanalyse.</p>	<p>Hovedfunn: Funnene oppgis som β, og OR for overvekt. β representerer forandringen som er assosiert med hver natural log-unit økning i PFAS</p> <ul style="list-style-type: none"> • PFOA assosiert med: <u>Økt TG</u> ($\beta = 0.14$, 95% CI: 0.02, 0.27, $p = 0.03$), <u>økt T-kol</u> ($\beta = 0.09$, 95% CI: 0.04, 0.14, $P < 0.001$), <u>økt LDL</u> ($\beta = 0.11$, 95% CI: 0.03, 0.19, $p = 0.006$) og <u>økt strekkbarhet/utvidbarhet</u> av brachial arterien (BrachD: $\beta = 0.45$, 95%KI: 0.04, 0.87, $p = 0.03$). • PFHxS assosiert med: <u>Redusert insulin resistanse</u> (=HOMA-IR, $\beta = -0.09$, 95% CI: -0.18, -0.003, $P = 0.04$), <u>økt T-kol</u>: $\beta = 0.04$ (95% CI: 0.01, 0.06, $P = 0.01$), og <u>økt LDL</u> ($\beta = 0.05$, 95%KI: 0.01, 0.09, $p = 0.02$). • PFOS assosiert med: <u>økt T-kol</u> ($\beta = 0.08$, 95% CI: 0.05, 0.12, $p < 0.001$), <u>økt LDL</u> ($\beta = 0.10$, 95% CI: 0.05, 0.16, $p < 0.001$), og <u>økt HDL</u> ($\beta = 0.06$, 95%KI: 0.003, 0.13, $p = 0.04$). • PFNA assosiert med: <u>økt T-kol</u> ($\beta = 0.05$, 95% CI: 0.01, 0.09, $p = 0.01$), <u>økt LDL</u> ($\beta = 0.07$, 95% CI: 0.01, 0.14, $p = 0.03$), og <u>økt strekkbarhet/utvidbarhet</u> av brachial arterien (BrachID: $\beta = 0.34$, 95%KI: 0.02, 0.67, $p = 0.04$). • PFDA: <u>økt HDL</u> ($\beta = 0.05$, 95%KI: 0.02, 0.09, $p = 0.003$). • PFUnDA: <u>Økt HDL</u> ($\beta = 0.04$, 95%KI: 0.01, 0.07, $p = 0.001$), og <u>redusert risiko for overvekt</u> (OR = 0.95, 95%KI: 0.91, 0.99, $p = 0.02$) • Ingen assosiasjon med BMI for PFOA, PFHxS, PFOS, PFNA og PFDA. <p>Bifunn:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Serum-PFAS-konsentrasjon (median) av de 3 mest målbare PFAS (oppgis ng/ml), matched-gruppe VS WTCHR-gruppe: PFOS (2.78 VS 3.72, $p < 0.000$), PFOA (1.39 VS 1.81, $p < 0.0001$) og PFHxS (0.53 VS 0.67, $p < 0.0001$) 	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Formål klart formulert? Ja • Ble kasusgruppen valgt ut på en tilfredsstillende måte? Fare for seleksjonsbias (kun 25% deltar fra WTCHR, og 26% frafall av de fra WTCHR som deltar). • Ble kontrollgruppen valgt ut på en tilfredsstillende måte? Fare for seleksjonsbias (kun 34% av de som rekrutteres til matched-gruppe deltar). Forskjeller mellom kasus og kontroll: matched gruppe har høyere andel kvinner og fedme/overvekt-deltagere, og WTCHR-gruppe har deltagere med høyere kaloriinntak. • Ble eksposisjonen presist målt: Pålitelige målemetoder. • Ble utfallene presist målt: Valide objektive målemetoder og samme målemetoder for begge grupper. Lik klassifisering. Valide selvrappoterings-sporreskjema. • Har forfatterne tatt hensyn til viktige konfundere? Kjønn, rase, kaloriinntak, fysisk aktivitet, røyk, og BMI er justert for i analysen. Andre miljøgifter som konfundere ikke tatt hensyn til (deltagere fra WTCHR var utsatt for mange andre kjemikalier som var assosiert med WTC-katastrofen). • Mange nok fulgt opp? Se over, fravær fra begge grupper. Oppgis delvis om hvorfor frafall i WTCHR-gruppe, men ikke for matched-gruppe (annet enn eksklusjonskriteriene). • Ble deltagerne fulgt opp lenge nok? Studien innhentet informasjon på et tidspunkt om eksponering for 15 år siden. Longitudinale studier er mer informative mtp. å oppdage kardiometabolske effekter over tid, som atherosklerose, da dette gjerne inntreffer senere i livet. • Sammenfaller resultatene i denne studien med resultatene i andre tilgjengelige studier? Tvetydige rapporteringer om lipidnivåer i ungdom. Insulinresistans har andre studier vist er redusert. Ingen har undersøkt arteriestrekkbarhet, og funn her foreslås kan komme av hormonendringer som PFAS kan ha gitt (økt østrogen, og redusert testosteron). • Styrker: I stor grad prøvd å unngå klassifiseringsskjevhet og måleskjevhet for eksposisjon og utfall. • Svakheter: Risiko for tilfeldige funn (siden bare en PFAS viste negativ assosiasjon til overvekt og ingen andre PFAS er assosiert til BMI). For både kasus og kontroll, så har de fra WTC-katastrofen og til i dag vært utsatt for andre typer miljø, slik at andre faktorer og eksponeringer kan bidra til assosiasjonene observert i studien.

Referanse: Lauritzen, H. B.Larose, T. L.Oien, T.Sandanger, T. M.Odland, J. O.van de Bor, M. et al. Prenatal exposure to persistent organic pollutants and child overweight/obesity at 5-year follow-up: a prospective cohort study. Environ Health. 2018; 17(1):9. Doi: 10.1186/s12940-017-0338-x			Design: Prospektiv kohortstudie
			Dokumentasjonsnivå III
			Grade: Svært lav
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer
Undersøke om assosiasjon mellom serumnivå av POPer (5 organoklorforbindelser og 2 PFAS) hos mor, og overvekt/fedme i barna ved femårsalder.	Data fra U.S. National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) Scandinavian Successive Small-for-Gestational Age births study (The SGA Study). The SGA Study ble gjennomført mellom 1986-88 i Norge og Sverige. Totalt 5722 damer inkludert som var 2. el. 3 gangs gravide, som møtte til første svangerskapskontroll/time, og <20 svangerskapsuger på vei. I tillegg en overrekruttering av damer som hadde risikofaktorer for SGA fødsel (Dvs.: tidligere lav fødselsvekt på barn, tidligere perinatal død, moren veier <50 kg før svangerskap, røykende mor og/eller kronisk hypertensjon eller nyresykdom hos mor). Antall inkluderte etter fødsel: Alle høyrisiko-svangerskap som resulterte i SGA-fødsel (dvs. fødselsvekt <10.persentil justert for kjønn og paritet) ble inkludert videre, i tillegg til 10% tilfeldige valgte gravide damer av de totalt 5722. → Totalt 791 mor-barn-par fulgt etter fødsel, av de 5722 mødrene. 291 barn var SGA og 500 non-SGA. 538 av barna til 5-års evaluering, men inkluderte kun 412 barn til slutt (eksklusjon: ikke antropometriske målinger ved femårs-oppfølgingen eller manglende serumprøver fra mor). For Norge 254 barn (85 SGA, 169 non-SGA) og Sverige 158 barn (52 SGA og 106 non-SGA). Utfall: «Child age-and-sex-specific BMI z-scores» og «hudfoldtykkelse z-scores», samt overvekt/fedme hos barn og «Non-monotonic dose-response» (NMDR) -forhold. Gjennomførelse: Info om mors alder, høyde, pre-gravide vekt, utd., røyk, tidligere ammeperiode-varighet og «inter-pregnancy interval» via intervju og selvrapporterte spørreskjema (i 1986 -88). Vektoppgang hos mor målt frem til uke 17 av jordmor/fastlege. Serum-PFAS målt i svangerskaps uke 17-20. Vekt hos barn 5 år, målt ved klinikken av trenete profesjonelle v/ standard prosedyrer, stående høyde målt v/ standard prosedyrer. BMI persentiler basert på standarder fra WHO 2006-07. Kovariabler: Mores alder, utdanning, røyk ved befruktning, BMI før svangerskap, vektoppgang ved svangerskapsuke 17, «interpregnancy interval», varighet på tidligere ammeperioder og land de bor i. Statistikk: Lineær og logistisk regresjon.	Hovedfunn for PFAS: • Justerte analyser (inkludert land): Økt «BMI-for-age-and-sex z-score» ($\beta = 0.18$, 95% CI: 0.01–0.35) og økt «triceps-hudfoldtykkelse z-score» ($\beta = 0.15$, 95% CI: 0.02–0.27) i barn fulgt opp etter fem år per ln-unit av serum-PFOS hos mor. • Signifikant forskjell mellom landene for økt «BMI-for-age-and-sex z-score» til PFOS ($p=0,039$). Analyser uten at det er justert for land, gir økt β for norske barn for PFOS ($\beta=0.30$, 95% CI: 0.08, 0.51), og for PFOA ($\beta=0.32$ (95% CI: 0.05, 0.60)). • Ikke signifikant forskjell mellom landene for økt «triceps-hudfoldtykkelse z-score», men analyser uten at det er justert for land, gir økt β for norske barn for PFOS ($\beta=0.20$, 95% CI: 0.06, 0.35), og for PFOA ($\beta=0.24$, 95% CI: 0.05, 0.42). • Justerte analyser (inkludert land): Økt OR for overvekt/fedme for hver ln-unit økning i serum-PFOS til mor (OR= 2.04, 95% CI: 1.11–3.74), og for PFOA (OR=1.61, 95%KI: 0.75–3.46). Analyser uten at det er justert for land, gir sterkere OR for norske barn for PFOS (OR= 2.96, 95% CI: 1.42–6.15), og for PFOA (OR= 2.90, 95%KI: 1.10–7.63). • Blant svenske barn, observerte man «non-monotonic dose-response» (NMDR) -forhold mellom morens serum- PFOS og «BMI-for-age-and-sex z-score» hos barna 5 år ($p = 0.09$ for non-linearity). Funn for de andre miljøgiftene • Justerte analyser (inkludert land): «BMI-for-age-and-sex z-score» viste ingen signifikant assosiasjon til PCB 153, p,p' -DDE, HCB, b-HCH og t-NC. I analyser uten at det er justert for land gir $\beta = 0.45$ (95%KI: 0.03, 0.87) for PCB153 for norske barn. • Justerte analyser (inkludert land), og analyser uten at det er justert for land: «Triceps- hudfoldtykkelse z-score» og «Subscapular skinfold z-score» viste ingen signifikant assosiasjon for de fem overnevnte POPer. OR for overvekt/fedme var heller ikke signifikant for justerte analyser. • Svenske barn: NMDR -forhold mellom PCB153 og «BMI-for-age-and-sex z-score» hos barna 5 år ($p = 0.02$ for non-linearity). Bifunn for PFAS: • Serum-PFOS: Norge median 9,62 ng/ml, Sverige median 16,3 ng/ml. • Serum-PFOA: 1,64 ng/ml Norge, og Sverige 2,33 ng/ml.	Sjekkliste: • Er formålet med studien klart formulert? Ja. • Er gruppene rekruttert fra samme populasjon/befolkningsgruppe? Nei, Norge og Sverige. • Var de eksponerte individene representative for en definert befolkningsgruppe/populasjon? Høy prevalens av undervektige og røykende mødre, og SGA-fødsler overrepresentert (kan gi seleksjonsbias, manglende generaliserbarhet), samt bare 2. eller 3 gangs fødende inkludert (manglende generaliserbarhet til førstegangs fødende). • Ble eksponisjon presist målt? Ja. • Ble utfallet presist målt? Ja, «detailed clinically based outcome assessments» for mor og barn. Standardiserte antropometriske målinger (unngår misklassifisering, økt statistisk presisjon). • Ble mange nok personer i kohorten fulgt opp? 68% av barna til 5-års evaluering. • Er det utført frafallsanalyser? Nei • Var oppfølgingstiden lang nok til å påvise positive og/eller negative utfall? Mulig obesogen effekt av PFAS kan komme senere i livet. • Er det tatt hensyn til viktige konfunderende faktorer i design/gjennomføring? Ja, se lengre ned. • Er den som vurderte resultatene (endepunktene) blindet gruppetilhørighet? Uklart. Styrke: Antall deltagere. Undersøke og justere for flere prenatale og postnatale faktorer. Hudfoldtykkelse målt i tillegg til BMI (er mer korrelert til kroppsfett enn BMI). Svakhet: Konfunderende faktorer som ikke er tatt hensyn til (andre miljøgifter, eller sosioøkonomiske- og livsstil forskjeller mellom de som spiser mye sjømat i Norge i forhold til i Sverige). Å måle hudfoldtykkelse gir fare for «intra- og inter-observer variability».
Konklusjon	Positiv assosiasjon mellom morens serumnivå av PFAS og overvekt/fedme hos deres barn ved femårsalder. Dette gjaldt særlig de norske deltagerne i forhold til de svenske.		
Land	Norge, Sverige		
År data innsamling	1986-88		

Referanse: Taylor, K. W. Novak, R. F. Anderson, H. A. Birnbaum, L. S. Blystone, C. Devito, M. et al. Evaluation of the association between persistent organic pollutants (POPs) and diabetes in epidemiological studies: a national toxicology program workshop review. <i>Environ Health Perspect.</i> 2013; 121(7):774-83. DOI: 10.1289/ehp.1205502			Design: Oversiktsartikkel	
			Dokumentasjonsnivå	III
			Grade:	Lav
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer	
<p>U.S. national toxicology program workshop: Undersøke om assosiasjon mellom POPs og DM2, ved å gjennomgå epidemiologisk litteratur</p>	<p>Datagrunnlaget: PubMed-søk august 2009 og oppdateringer frem til desember 2010. Totalt 2752 studier. Inklusjon: Studier som omtalte POPs (organoklor-, organofluor- og organobrom -forbindelser) og DM2 i barn og voksne, og som presenterte originaldata. Eksklusjon: Jobbrelaterte studier, eller brukte dødsattest for å identifisere DM2, eller presenterte ikke originaldata. Antall artikler: Litteratursøket ga til slutt 72 studier, men 28 studier ekskludert fordi metode for å måle POPs eller klassifisering av DM2 var ikke adekvat. I tillegg 17 artikler hentet fra referanselister til primærlitteratur og oversiktsartikler. Dataekstraksjon: For studier uten signifikante funn, så ble hovedfunn fra høyeste eksponeringsgruppe i forhold til laveste inkludert. For studier som rapporterte om statistiske signifikante assosiasjoner med monoton dose-respons-forhold, så ble hovedfunn fra laveste signifikante eksponeringsgruppe inkludert. Når assosiasjonen var ikke-monoton og signifikant, ble det en vurdering for hver enkelt artikkel hvilket hovedfunn som skulle tas med. Punkter som ble evaluert, mtp. om assosiasjon mellom POPs og DM2, inkluderte blant annet: Eksponeringen blitt målt på adekvat måte? Risiko for seleksjonsbias, «reverse causation», og «loss to follow-up»? Statistiske metoder, samt odds ratio og konfidensintervaller. Kliniske diagnoser, karakteristikk til studiepopulasjoner. Konsistens mellom studier. Styrker og svakheter ved studiedesign, og studier ble sortert etter type studiedesign. Inndeling i kjemikalie-grupper: Minst tre studier måtte rapportere om DM-relaterte utfall innen et kjemikal eller en kjemikalklasse, for at det skulle tas stilling til om det var en assosiasjon mellom kjemikalet eller kjemikalklassen til DM2. Statistikk: Programvaren Meta Data Viewer ble brukt for å presentere resultat. Alle artiklene innen et kjemikal/kjemikalklasse presenteres sammen i hver sin figur, med oddsratio (OR) og konfidensintervall (KI) (OR og KI er oppgitt slik som fra originalartikkel).</p>	<p>Sterkest positiv assosiasjon:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Trans-nonachlor: Basert på 5 studier (1 nested kasus-kontroll, 4 tversnittstudier) • DDE (dichlorodiphenyldichloroethylene), DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane), DDD (dichlorodiphenyldichloroethane): basert på 22 studier (4 prospektive studier eller nested kasus-kontroller, resterende er tversnittstudier) • Dioksiner, dioksinlignende kjemikalier, og PCBs (polychlorinated biphenyls): 19 studier (4 nested kasus-kontroll, 3 prospektive studier, resterende er tversnittstudier). Kjemikalene som dette omfatter, er: PCBer (total), PCB153, dioksinlignende PCBer, og ikke-dioksin-lignende PCBer. (PCB153: ofte brukt som et surrogatmål for total PCB) • Dioksinet TCDD (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-<i>p</i>-dioxin), og «Agent orange» (kjemikalie brukt av amerikanske soldater i Vietnamkrigen, inneholder TCDD): 6 tversnittstudier <p>Positiv assosiasjon:</p> <ul style="list-style-type: none"> • For enkelte spesifikke organoklorine-kjemikalier, deriblant HCB (hexachlorobenzene), β-HCH (β-hexachlorocyclohexane) og γ-HCH (lindane): <6 studier per spesifikke organoklorin, totalt 35 studier for alle samlet (tversnittstudier eller nested kasus-kontroller, kun 1 retrospektiv studie) <p>Ingen assosiasjon:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Brom-forbindelser: polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) og polybrominated biphenyls (PBBs). 7 studier (2 prospektive studier, 1 nested kasus-kontroll, resterende er tversnittstudier) • PFASs: PFHxS, PFNA, PFOA, PFOS. <ul style="list-style-type: none"> • 10 tversnittstudier fra NHANES, data mellom 1999-2006. Aldersgrupper 12-20 år (6 studier) og over 20 år (4 studier), både menn og kvinner. Fra 474 deltagere på det laveste, til 2072 på det meste. • 1 tversnittstudie fra USA 2009, data fra C8 Health project. >20 år, menn og kvinner, antall deltagere 13,141. Drikkevann forurenset med PFOA. (MacNeil et al.2009) 	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Er formålet med oversikten klart formulert? Ja. • Søkte forfatterne etter relevante type studier? Ja. Inkluderte også studier med DM-relaterte utfall (eks metabolsk syndrom), men artikler med DM2 var det som formelt ble inkludert til slutt pga. tidsmessige årsaker. • Er det sannsynlig at viktige og relevante enkeltstudier er funnet? Ja. • Er kvaliteten på de inkluderte studiene tilstrekkelig vurdert? Ja, en gruppe av mennesker kom sammen og diskuterte/vurderte kvaliteten på de ulike studiene. • Dersom resultater fra de inkluderte studiene er kombinert statistisk i en metaanalyse, var dette fornuftig/forsvarlig? Heterogenitet mellom studier gjorde at metaanalyse ikke kunne bli laget. • Hva forteller resultatene? En assosiasjon mellom DM2 og visse POPs, men at en kausal årsakssammenheng ikke kan besluttes på grunnlag av kun epidemiologiske studier. • Hvor presise er resultatene? Oppgitt i OR og konfidensintervall. • Ble alle viktige utfallsmål vurdert? DM2. <p>Hva som bør forskes på videre for å undersøke om en årsakssammenheng:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Forstå den modifierende effekten til faktorer som viseralt fett, andre kjemikalier, alder ved eksponering, inflammasjon, varighet på eksponering. • Statistiske analyser burde ta hensyn til konfunderende faktorer som kjønn, alder, rase/etnisitet, mikstureffekten • Videre undersøke den observerte omvendte U-formen på dose-respons-kurver for enkelte miljøgifter. • Studier in vivo og in vitro for å finne mulige mekanismer til at POPs kan være relatert til DM2. • Utvikle bedre målemetoder for å måle POPs i små blodvolum. • Longitudinale studier 	
Konklusjon				
Assosiasjon for enkelte POPs til DM2, men epidemiologiske studier er ikke nok for å fastslå en årsakssammenheng				
Land				
USA				
Ar data innsamling				
2009-2010				

Referanse: Magliano, D. J.Loh, V. H.Harding, J. L.Botton, J.Shaw, J. E. Persistent organic pollutants and diabetes: a review of the epidemiological evidence. <i>Diabetes Metab.</i> 2014;40(1): 1-14.DOI: 10.1016/j.diabet.2013.09.006			Design: Oversiktsartikkel
			Dokumentasjonsnivå III
			Grade: Lav-svært lav
Formål	Materiale og metode	Resultater	Diskusjon/kommentarer
<p>Oppsummere den epidemiologiske evidensen som relaterer POPer til diabetes, og styrker og svakheter ved studiene.</p> <p>Konklusjon</p> <p>Majoriteten av studier som er inkludert rapporterer om en assosiasjon mellom eksponering til POPer og diabetes, men det eksisterer allikevel en viss inkonsistens.</p> <p>Land</p> <p>Australia, Frankrike</p> <p>Ar data innsamling</p> <p>Ukjent fra når, men til mars 2013</p>	<p>Datagrunnlag: PubMed, OVID (Medline) og Web of Science databaser ble brukt for å finne relevante studier publisert mellom 1950 til mars 2013. Referanselister og bibliografier ble også gjennomgått.</p> <p>Litteratursøket: [diabetes or insulin resistance or glucose intolerance] AND [persistent organic pollutant or polychlorinated biphenyls or organofluorine or organobromine or organo pesticides] (alle med MeSH-terms).</p> <p>Inklusjonskriterier: Engelskspråklige studier: tversnittstudier, kohort eller kasus-kontroller. Studiene måtte undersøke forholdet mellom POPer eller pesticider og diabetes, insulinresistans, glukose-intoleranse eller HOMA-IR i voksne.</p> <p>Ekskluderte: Studier som omhandlet død på grunn av diabetes, svangerskapsdiabetes eller metabolsk syndrom som utfall.</p> <p>Antall artikler til slutt: 388 publikasjoner fra litteratursøket, og 8 artikler hentet fra referanselister. 74 artikler fra disse ble ansett å være relevante, hvorav 41 artikler møtte inklusjonskriteriene til slutt.</p> <p>Inndelte studier i 3 grupper: 1) Høyrisiko jobbrelaterte studier, 2) ikkejobbrelaterte høyrisiko studier, og 3) generelle populasjonsstudier. Informasjon om hver enkelt studie presenteres i tabeller.</p>	<p>Assosiasjon mellom POPs og diabetes blant høyrisiko, jobbrelaterte tversnittstudier og prospektive kohorter (totalt 6 studier): Dioksiner/PCBer er det sterkeste assosiasjon for (dioksiner inkluderer TCDD, samt «Agent orange» som krigsveteraner under vietnamkrigen var utsatt for, og som inneholder TCDD). Men tvetydighet mellom studier gir allikevel usikkerhet om assosiasjonen, se diskusjon.</p> <p>Assosiasjon mellom POPs og diabetes blant høyrisiko, ikke-jobbrelaterte (for eksempel, å bo nært forurensede områder, spise mat med høyt POPs-innhold (fet fisk) m.m.) tversnittstudier og prospektive kohorter (totalt 14 studier): PFOA-forurensset drikkevann (Macneil et al 2009): Ingen assosiasjon mellom serumnivåer av PFOA og diabetes eller fastende glukose (C8 Health project, 2005-2006, menn og damer, >19 år, USA. Kaus-kontroll med 13,922 deltagere, og Tversnittstudie med 21,642 deltagere). Med unntak av nevnte studie og en tversnittstudie fra Grønland, oppsummerer oversiktsartikkelen om en positiv assosiasjon til DM, da dette er noe som rapporteres fra et flertall av studiene. Miljøgiftene som særlig viser konsistens er PCBer. Andre: DDE og pesticider.</p> <p>Assosiasjon mellom POPs og DM blant generelle populasjoner, tversnittstudier (14 stk.): Oppsummerer at det er en assosiasjon mellom POPer og DM. Særlig gjelder dette for POPer som er høyt chlorinated (som β-HCH og HCB). 2 studier fra NHANES omtalte PFOA og PFOS (Melzer et al.2010, og Nelson et al.2010): Mellom 1999-2004 \rightarrow PFASs ikke assosiert med selvrappert DM, og mellom 2003-2004 \rightarrow PFASs ikke assosiert med insulinresistans. (Populasjoner >19 år, menn og damer, antall deltagere var 2966 og 2094).</p> <p>Assosiasjon mellom POPs og diabetes blant generelle populasjoner, prospektive studier (5 stk.): Oppsummerer med at de inkluderte studiene viser at eksponering til POPer gir økt risiko for DM. Alle fem studiene rapporterer om noen positiv assosiasjon for PCB/HCB med DM etter å ha justert for tradisjonelle risikofaktorer.</p> <p>Hvilke POPer: Majoriteten av alle studiene som undersøkte TCDD eller dioksiner viste å være assosiert med økt risiko for DM. DDE, DDT, trans-achlor, HCB og PCBer, (spesielt PCB153), var også assosiert med DM i majoriteten av studiene som undersøkte dem.</p>	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Er formålet med oversikten klart formulert? Ja •Søkte forfatterne etter relevante type studier? Ja •Er det sannsynlig at viktige og relevante enkeltstudier er funnet? Ja •Er kvaliteten på de inkluderte studiene tilstrekkelig vurdert? Ja, men variasjon i kvaliteten på de inkluderte studiene. •Dersom resultater fra de inkluderte studiene er kombinert statistisk i en metaanalyse, var dette fornuftig/forsvarlig? På grunn av stor heterogenitet i hvordan dataen om POPer ble rapportert og analysert, var det ikke mulig å lage en metaanalyse. •Hva forteller resultatene? Fleste inkluderte studier rapporterer om assosiasjon mel. POPer og DM. •Hvor presise er resultatene? Varierer veldig. Flere studier har svært brede konfidensintervaller, få deltagere. •Ble alle viktige utfallsmål vurdert? DM, DM1, DM2, HOMA-IR HOMA-β, og andre relevante mål mtp. insulinresistans og redusert glukose-toleranse. <p>Svakhet for flere av de inkluderte tversnittstudiene: Vet ikke hva som kom først; eksponeringen eller DM. DM1 versus DM2; fleste oppgir bare DM. Fleste studiene fra NHANES.</p> <p>Svakhet ved de inkluderte høyrisiko, jobbrelaterte studiene:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Eksponeringen skjer ofte mange år før POPer måles i serum \rightarrow konsentrasjonen av POPer blir kalkulert fra serumkonsentrasjoner flere år senere eller estimert ved spørreskjema. Halveringstid til flere POPer kan være mellom 5-10 år. Hvis de med DM har lik metabolisme av POPer som ikke-diabetikere, så vil dette kunne føre til underestimering av observert assosiasjon. •Ofte er de på arbeidssted eksponert til andre kjemikalier i tillegg, som ikke tas hensyn til (konfundering) •Å velge referansegruppe et problem (angivelig ueksponerte arbeidere i den generelle befolkning) •Funn som taler imot en assosiasjon til DM: NIOSH-studier rapporterer om ingen assosiasjon, som Ranch Hand-studier derimot gjør. Spekulasjoner om sistnevnte studiepopulasjoner er blitt utsatt for andre kjemikalier i tillegg til TCDD og som kan bidra/forsterke utviklingen av DM, eller at NIOSH sine deltagere er utsatt for andre faktorer som beskytter de mot å utvikle DM. <p>Svakhet for de inkluderte prospektive studiene: Få antall studier. Små studiepopulasjoner. Hvilken type POPer som ble undersøkt varierte veldig mellom studiene, og positive funn var ikke alltid signifikant for begge kjønnene.</p> <p>Generelt svakheter for inkluderte studier: Hvordan diabetes ble målt varierte veldig mellom studiene. Det kan ha vært stor forskjell i serum-POPer mellom studiene innad i en av gruppene (1 til 3), som kan forklare forskjeller mellom studier.</p> <p>Diskuteres rundt konfundering, og veien videre for forskning på dette tema.</p>

Referanse: Casals-Casas, C. Desvergne, B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. Annu Rev Physiol. 2011; 73: 135-62. Doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142200

Design: Oversiktsartikkel/litteraturstudium?	
Dokumentasjonsnivå	III-IV?
Grade:	Ikke aktuelt/ikke vurderbart

Formål	Materiale og metode	Resultater/diskusjon	Diskusjon/kommentarer
<p>•Gi oversikt over de kjemikalier som særlig er mistenkt å være hormonforstyrrende stoffer (EDC'er), og som kan ha bidratt til den økte forekomsten av metabolske forstyrrelser (som DM2/fedme) de siste tiårene, og hvilke kjernereseptorer (NRer) de er foreslått å virke via.</p> <p>•Diskuterer undt problemene/ vanskelighetene ved å undersøke om eksponering til EDC'er er en risiko for metabolske sykdommer.</p>	<p>Det oppgis ikke hvordan forfatterne har kommet frem til sine referanser: Står ikke at det er gjort et systematisk litteratursøk, hvilke databaser som er brukt, søkeord, inklusjonskriterier o.l.</p> <p>Artikkelen er delt inn i 4 deler på bakgrunn av tema, se under resultater.</p> <p>Presenteres to tabeller i artikkelen:</p> <p>•Tabell 1: Oversikt over 8 kjemikalie-grupper (organokloriner, dioksiner, organotin, PFAS, bromerte flammehemmere, alkylfenoler, BPA (bisphenol A), ftalater). Tabellen gir info om eksponeringskilde/type kjemikal, legal status i 2011, NRer de er foreslått å reagere med, effekter rapportert fra in vitro/in vivo-studier, effekter de er assosiert med i epidemiologiske studier, effekter rapportert fra prenatal studier på dyr/mennesker, og referanser.</p> <p>•Tabell 2: Oversikt over de samme kjemikalier og hvilke konsentrasjoner som er målt i mennesker og brukt i dyrestudier, samt halveringstider i mennesker og dyr.</p>	<p>1) Innledningsvis informasjon om EDC'er</p> <p>2) Oversikt over kjemikalier som i dag er særlig mistenkt å kunne være EDC'er, og bidra til metabolske forstyrrelser:</p> <p><u>PFAS:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •Prenatale studier rotter: Redusert fødselsvekt, økt neonatal mortalitet. •Voksne rotter → redusert testosteron nivå, økt estradiol. Voksne rotter og mus → Reduksjon i serum-kolesterol og /eller triglyserider. •Epidemiologiske studier: Økt serum-kolesterol (HDL spesielt). Ingen assosiasjon med DM2 og metabolsk syndrom, men positivt korrelert med hyperglykemia. <p>3) Etablerte eller foreslåtte mekanismer til hvordan EDC'er kan gi metabolske forstyrrelser:</p> <p><u>PFAS:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> •NRer den er vist å kunne interagere med: Østrogen- og androgenreseptorer, og å aktivere muse- og humane peroxisome proliferator-activated receptor (PPARs) •In vivo-konsekvenser av aktiveringen av PPARs er omdiskutert: PFOA-eksponerte voksne mus viste vekttap (PPAR-alfa-avhengig), men også rapportert om ingen vekttap i voksne eksponerte mus. PPARalfa foreslått å være årsak til økt kroppsvekt og økt serum-insulin og serum-leptin midtlivs etter prenatal eksponering. <p>4) utfordringer ved å undersøke om EDC'er er en risiko for metabolsk sykdom:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <u>Overvåke konsentrasjoner av kjemikalier</u> i omgivelsene («ambient monitoring») versus overvåkning av konsentrasjoner i blod og vev til dyr og mennesker («biomonitoring»). • <u>Identifisere den metabolske effektive dosen:</u> Omvendt U-formet dose-responsforhold, og «mikstureffekten». • <u>Etablere link mellom eksponering og metabolske effekter:</u> epidemiologiske studier viktig! Men, metabolske sykdommer er multifaktorielle. Ulemper med studier hittil: tversnittstudier og konfundering. • <u>Eksperiment på dyr og celler:</u> 1) In vitro- versus in vivo-studier. 2) Artsforskjeller påvist for enkelte NRer (mus/rotter versus mennesker). 3) Dose og eksponeringstid i dyr i forhold til mennesker. • <u>Eksponering i kritiske perioder i livet:</u> Prenatal eksponering og epigenetiske mekanismer. Kronisk eksponering på lave doser. • <u>Regulering av nye kjemikalier:</u> God og ny teknologi for overvåkning av kjemikalier i mennesker, og i ulike faser av livet. Nye integrerende tilnærminger for å forstå mikstureffekten og effekten av eksponering i ulike deler av livet. 	<p>Sjekkliste:</p> <ul style="list-style-type: none"> •Er formålet med artikkelen klart formulert? Ja •Søkte forfatterne etter relevante type studier? Ikke oppgitt •Er det sannsynlig at viktige og relevante enkeltstudier er funnet? Uklart. •Er kvaliteten på de inkluderte studiene tilstrekkelig vurdert? Uklart. •Dersom resultater fra de inkluderte studiene er kombinert statistisk i en metaanalyse, var dette fornuftig/forsvarlig? Ikke aktuelt. •Hva forteller resultatene? «Nye» og «gamle» miljøgifter er assosiert med å være EDC'er, og å gi uheldige effekter in vitro og in vivo, samt assosiert med metabolske sykdommer hos mennesker. Viktig med videre overvåkning av miljøgifter i miljøet, og i dyr og mennesker. I tillegg til videre forskning på miljøgifter og gode regulerende tiltak av disse kjemikalierne. •Hvor presise er resultatene? For de epidemiologiske studiene er det ikke oppgitt p-verdier, konfidensintervaller, oddsratio med mer. •Ble alle viktige utfallsmål vurdert? Uklart. <p>Styrker: Svært informativ artikkel om temaet.</p> <p>Svakheter: Oppgir ikke hvordan de har kommet frem til referansene brukt i tabell 1 (som er en oppsummering av effekter etter miljøgifteksponering på celler, dyr og mennesker).</p>
Konklusjon			
Flere miljøgifter er mistenkt å være EDC'er via studier på dyr og celler, og studier på mennesker gir assosiasjoner til metabolske sykdommer. Regulering av disse og nye kjemikalier er viktig mens videre forskning pågår.			
Land			
Sveits			
Ar data innsamling			
Ukjent.			