

De effecten van perinatale blootstelling aan PCB's op de immuunrespons

Daniëlle van Bentem
3247902
Begeleider: Gert Doekes

Universiteit Utrecht
Mei 2011

Samenvatting

Polychloorbifenylen (PCB's) zijn chloorkoolwaterstoffen die vanwege hun persistente en lipofiele eigenschappen lange tijd zijn gebruikt voor diverse industriële toepassingen. Blootstelling aan PCB's kan echter verschillende toxische effecten veroorzaken bij zowel dieren als mensen. Recentelijk is uit een aantal studies gebleken dat er bij kinderen die tijdens en na de zwangerschap aan PCB's zijn blootgesteld sprake is van een verminderde immuunrespons na vaccinatie tegen tetanus en difterie. Deze onderzoeken vormen de aanleiding om in deze scriptie te onderzoeken wat de effecten zijn van perinatale blootstelling aan PCB's op het functioneren van het immuunsysteem van jonge kinderen en op de immuunrespons na vaccinatie in het bijzonder.

De belangrijkste bron van blootstelling aan PCB's is voedsel, waarbij de hoogste concentraties chloorkoolwaterstoffen worden teruggevonden in dierlijke producten met een hoog vetgehalte. De consumptie van vette vis draagt voor 70-80% bij aan de inname van PCB's. Vergelijkingen tussen verschillende populaties laten zien dat de gemiddelde dagelijkse inname van PCB's in de meeste gevallen onder de gestelde norm van 2 pg WHO-TEQ/kg lichaamsgewicht/dag ligt. Er zijn echter subpopulaties waarbij de blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen aanzienlijk hoger is dan de gemiddelde dagelijkse inname.

De effecten van blootstelling aan PCB's zijn onderzocht door eerst verschillende proefdierstudies te analyseren. Uit deze studies blijkt dat de toxische effecten van PCB's voornamelijk veroorzaakt worden via AhR afhankelijke mechanismen en kunnen leiden tot verstoringen in de cellulaire en humorale immuunrespons. De waargenomen effecten verschillen tussen de bestudeerde diersoorten. Deze verschillen zouden veroorzaakt kunnen worden door de chemische interacties tussen de chloorkoolwaterstoffen, de verschillen in compositie van de toxische stoffen, de gebruikte concentraties, soortspecifieke gevoeligheid van de dieren, en de mogelijke invloed van metabole activiteit bij in vivo studies in vergelijking met in vitro studies.

De effecten die bij de proefdieren werden waargenomen zijn vergeleken met verschillende observatiestudies in kinderen. Deze studies suggereren dat de kans op het ontwikkelen van een luchtweginfectie groter is bij blootstelling aan PCB's tijdens de zwangerschap en via borstvoeding. Maar in sommige gevallen werd juist een afname in het aantal infecties gevonden bij blootstelling aan mono- en di-*ortho* PCB's. De waargenomen veranderingen in de cellulaire immuunrespons waren in de meeste gevallen niet significant. Daarnaast was de antilichaamrespons na vaccinatie tegen tetanus, difterie, bof en mazelen in een aantal subpopulaties lager is bij hogere blootstelling aan PCB's. Ook kan de significantie van de waargenomen effecten zijn beïnvloed door de grootte van het cohort, de mate van blootstelling binnen de bestudeerde populatie, en variëren door het gebruik van verschillende onderzoeksmethoden. De effecten die bij kinderen zijn waargenomen waren minder duidelijk dan de gevonden effecten in proefdierstudies, maar impliceren dat blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen alleen kan zorgen voor gezondheidsrisico's in subpopulaties die aan hoge concentraties worden blootgesteld. Blootstelling aan PCB's zou in deze gevallen een risico kunnen vormen als het functioneren van het immuunsysteem ook wordt aangetast door andere factoren, zoals vroegtijdige geboorte, chronische ziekten of andere aandoeningen.

Inhoudsopgave

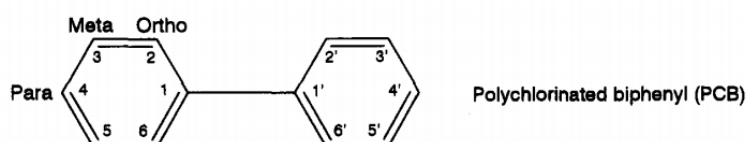
Samenvatting.....	2
Inleiding.....	4
Hoofdstuk 1 Chloorkoolwaterstoffen in het milieu.....	6
1.1 PCB's in voedingsmiddelen.....	6
1.2 Inname van PCB's door de mens.....	10
1.3 Risico.....	12
Hoofdstuk 2 Immunotoxische effecten van Chloorkoolwaterstoffen.....	13
2.1 Effecten van in ovo toediening van PCB's bij kippen.....	17
2.2 Effecten van toedienen van PCB 153 en 126 bij geitenjongen.....	18
2.3 Verschillen in de lymfocytproliferatie.....	20
2.4 Verschillen in de antilichaamrespons.....	21
2.5 Conclusie.....	22
Hoofdstuk 3 Immunotoxiciteit bij kinderen.....	23
3.1 Chloorkoolwaterstoffen en de kans op infecties.....	23
3.2 Immunotoxische effecten op de cellulaire afweer.....	27
3.3 Effecten op de antilichaamrespons na vaccinatie.....	28
3.4 Conclusie.....	30
Hoofdstuk 4 Discussie en conclusie.....	31
Referenties.....	34

Inleiding

Polychloorbifenylen (PCB's) zijn chloorkoolwaterstoffen die tot de jaren zeventig voor verschillende industriële toepassingen werden gebruikt. Vanwege hun persistente en lipofiele eigenschappen werden ze onder andere toegepast in vloeistoffen voor condensatoren en transformatoren. Daarnaast zijn ze vanwege hun chemische stabiliteit en brandvertragende eigenschappen gebruikt in hydraulische systemen, als brandvertragers en weekmakers, en als toevoeging aan coatings, verf en koelvloeistoffen (Baars et al., 2004; Fromberg et al., 2010; Yilmaz et al., 2006).

PCB's komen voornamelijk in het milieu terecht via de verwerking van industrieel en huishoudelijk afval (Baars et al., 2004). Hoewel het gebruik van deze organische componenten sinds de jaren zeventig in de meeste landen is verboden, worden ze vanwege hun persistente en lipofiele eigenschappen nog veel aangetroffen in het milieu (Fromberg et al., 2010). De lipofiele eigenschappen van PCB's zorgen er voor dat ze makkelijk worden opgenomen door organismen, waar ze kunnen ophopen in het vetweefsel (Storelli et al., 2003). Omdat PCB's in het algemeen slecht afbreekbaar zijn en dus een lange halfwaardetijd hebben, kunnen ze accumuleren in voedselketens en zo een bedreiging vormen voor de gezondheid van zowel mensen als dieren (Lyche et al., 2004).

Er zijn verschillende toxische effecten van PCB's bekend. De toxiciteit is echter afhankelijk van de concentratie en de soorten PCB's waar mensen of dieren aan worden blootgesteld. Er zijn 209 soorten PCB's, die van elkaar verschillen in het aantal en de positie van de chlooratomen, zoals in figuur 1 is te zien (Huisman et al., 1995). De toxiciteit van PCB's is afhankelijk van de gechloreerde posities en op basis daarvan kunnen ze in verschillende structurele groepen worden ingedeeld, die verschillende werkingsmechanismen hebben (Baars et al., 2004).



Figuur 1. De moleculaire structuur van polychloorbifenylen (Huisman *et al.*, 1995).

PCB's met een chlooratoom op de ortho-positie van de bifenylingen worden *mono-ortho* PCB's genoemd. Net als *non-ortho* PCB's, die geen chlooratomen op deze positie hebben, hebben ze een werkingsmechanisme dat vergelijkbaar is met dat van dioxines. Deze structurele groep PCB's wordt daarom ook wel dioxineachtige PCB's genoemd. De structuur van deze PCB's maakt het namelijk mogelijk om net als dioxines zoals TCDD aan de arylhydrocarbon receptor (AhR) te binden (Baars et al., 2004; Lyche et al., 2006; Yilmaz et al., 2006). De AhR is een intracellulaire receptor die onder andere een rol speelt bij de differentiatie van T cellen. Persistente chloorkoolwaterstoffen zoals TCDD, dioxines en PCB's kunnen echter aan de receptor binden en zo de transcriptie van genen kan beïnvloeden. Na binding van een ligand wordt de receptor naar de nucleus getransporteerd, waar het aan

het DNA bindt en de transcriptie van verschillende genen kan stimuleren. Op deze manier kan de binding van persistente chloorkoolwaterstoffen leiden tot veranderingen in de immuunrespons (Quintana et al., 2008; Denison and Nagy, 2003).

Er zijn ook PCB's die geen affiniteit hebben voor de AhR, de di-*ortho* PCB's. Deze groep PCB's hebben geen dioxineachtige toxiciteit en worden daarom als minder toxisch beschouwd in vergelijking tot de andere structurele groep (Baars et al., 2004).

De toxische effecten van PCB's zijn divers. Zo kunnen mensen die PCB's produceren, of werken met producten die PCB's bevatten, chlooracné oplopen door acute blootstelling van de huid (Safe, 1994). Daarnaast kan blootstelling aan PCB's kankerverwekkend zijn, negatieve effecten hebben op de ontwikkeling van het centrale zenuwstelsel, op het functioneren van het immuunsysteem, of op de ontwikkeling van de foetus tijdens de zwangerschap (Baars et al., 2004).

Veranderingen in het functioneren van het immuunsysteem brengen risico's met zich mee, omdat ze de kans op infecties kunnen verhogen. In proefdierstudies zijn verschillende effecten op de immuunrespons waargenomen bij blootstelling aan PCB's en ook in mensen zijn studies naar de effecten van PCB's op het immuunsysteem gedaan. In diverse studies wordt aangenomen dat met name blootstelling tijdens en kort na de zwangerschap gevolgen kan hebben voor een baby, omdat het immuunsysteem dan nog in ontwikkeling is. Blootstelling vindt tijdens de zwangerschap via de placenta plaats en na de geboorte via de moedermelk, waardoor PCB's zich kunnen ophopen in de kinderen (Dietert, 2009; Duramad et al., 2007; Van Loveren & Piersma, 2004).

Recent zijn er een aantal epidemiologische studies verschenen naar de effecten van prenatale en postnatale blootstelling aan PCB's op de vaccinatierespons bij jonge kinderen. Uit deze studies bleek dat kinderen die tijdens de zwangerschap en kort na de geboorte aan hoge concentraties PCB's waren blootgesteld, na vaccinatie minder antilichamen tegen bepaalde pathogenen aanmaakten (Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010). Deze onderzoeken vormen de aanleiding om in deze scriptie te onderzoeken welke effecten perinatale blootstelling aan PCB's kunnen hebben op het functioneren van het immuunsysteem van jonge kinderen en op de immuunrespons na vaccinatie in het bijzonder. Omdat er nog maar weinig studies naar de effecten op de vaccinatierespons zijn verschenen, worden ook andere waargenomen effecten op het immuunsysteem behandeld.

Om tot een antwoord te komen op de vraag wat het effect is van blootstelling aan PCB's op het functioneren van het immuunsysteem, zal eerst worden gekeken op welke manier mensen aan PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen worden blootgesteld en hoe groot deze blootstelling is. Daarna zullen in Hoofdstuk 2 de effecten worden besproken die in verschillende proefdierstudies en ecotoxicologische studies zijn gevonden. Vervolgens worden in Hoofdstuk 3 de effecten behandeld die werden waargenomen in observatiestudies in mensen. Ten slotte zal de relevantie van deze resultaten besproken worden in de discussie in Hoofdstuk 4.

Hoofdstuk 1 Chloorkoolwaterstoffen in het milieu

Er zijn verschillende manieren waarop persistente chloorkoolwaterstoffen in het milieu terecht kunnen komen. PCB's kunnen bijvoorbeeld in het milieu terechtkomen via onvolledige afvalverbranding, waarbij ook dioxines (PCDD's en PCDF's) vrijkomen (Baars et al., 2004; ten Tusscher et al., 2003). Daarnaast is het mogelijk dat PCB's in de omgeving terecht zijn gekomen door lekkage tijdens industriële processen, accidentele lozing, en onzorgvuldige afvalopslag of dumping in het milieu (Jackson et al., 2010). Andere chloorkoolwaterstoffen zoals DDT, chloordaan en dieldrin werden voorheen op grote schaal gebruikt in pesticiden en hebben zich zo over grote gebieden kunnen verspreiden. In sommige ontwikkelingslanden worden ze nog steeds gebruikt om insectenplagen tegen te gaan (Fromberg et al., 2010).

De concentraties van persistente chloorkoolwaterstoffen in het milieu veranderen vanwege hun chemische stabiliteit maar heel langzaam. Organismen kunnen chloorkoolwaterstoffen opnemen uit de omgeving, waardoor de stoffen zich kunnen ophopen in het vetweefsel. Omdat chloorkoolwaterstoffen ook in het lichaam nauwelijks worden afgebroken, kan accumulatie in de voedselketen optreden (Fromberg et al., 2010).

Blootstelling aan mengsels van chloorkoolwaterstoffen zoals dioxines en PCB's vindt in ruim 90% van de gevallen plaats via het voedsel (Fromberg et al., 2010; Darnerud et al., 2006; Huisman et al., 1995). De meeste chloorkoolwaterstoffen worden aangetroffen in dierlijke producten zoals vis, vlees, en melkproducten. Het is dus aannemelijk dat deze producten het meest bijdragen aan de hoeveelheid PCB's waar mensen aan worden blootgesteld (Covaci et al., 2002).

Om te bepalen in welke mate mensen PCB's via voedsel opnemen, worden in dit hoofdstuk een aantal studies behandeld waarin is gekeken naar de hoeveelheid PCB's in verschillende voedingsmiddelen. Op grond daarvan wordt geschat hoe groot de hoeveelheden chloorkoolwaterstoffen zijn die mensen daadwerkelijk binnenkrijgen via het voedsel. Deze informatie kan bijdragen aan het beoordelen van de risico's die blootstelling aan de gangbare concentraties PCB's in het milieu kunnen veroorzaken.

1.1 PCB's in voedingsmiddelen

PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen worden het meest aangetroffen in producten met een hoog vetgehalte. Daarom richten de meeste studies naar de concentraties chloorkoolwaterstoffen in voedsel zich op vlees, vis en melkproducten zoals boter, melkvet en kaas (Fromberg et al., 2010). Vooral vette vis blijkt een bron van PCB's te zijn. Uit Finse en Zweedse studies blijkt dat de visconsumptie in Scandinavië voor 70-80% bijdraagt aan de blootstelling aan PCB's via voedsel (Darnerud et al., 2006). In deze paragraaf zullen verschillende studies worden besproken die de hoeveelheid PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen in vethoudende voedselproducten hebben geanalyseerd.

In een recente Deense studie van Fromberg et al. zijn monsters genomen van 35 verschillende soorten voedsel van dierlijke oorsprong, waarvan 17 soorten vissen, die vervolgens zijn geanalyseerd met behulp van gaschromatografie. Bij de verschillende soorten voedsel werd onder andere onderscheid gemaakt tussen in Denemarken geproduceerde producten en uit het buitenland geïmporteerde voedingsmiddelen.

Alle monsters werden onderzocht op de aanwezigheid van PCB's, dioxines en uit chloorkoolwaterstof bestaande pesticiden. De concentratie PCB's in de monsters werd gedefinieerd als het gemiddelde van tien individuele indicator PCB's (Fromberg et al., 2010). De indicator PCB's vormen een groep die wordt gebruikt om de totale hoeveelheid PCB's in een monster te schatten, omdat deze soorten het meest frequent in monsters worden aangetroffen (Baars et al., 2004). Uit de resultaten bleek dat de gemiddelde hoeveelheden PCB's het grootst waren bij producten die afkomstig waren van vissen. De hoogste concentraties PCB's werden gemeten in levertraan (182 µg/kg vet), visolie (65 µg/kg vet, rauwe kweekpaling (56 µg/kg vis) en pekelharing (20.6 µg/kg vis). De concentratie PCB's was het laagst in rauwe zwaardvis, namelijk 2,6 µg/kg vis. In andere voedselgroepen waren de hoeveelheden PCB's die werden aangetroffen veel kleiner. In vrijwel alle categorieën waren de gemiddelde concentraties lager dan 10 µg/kg vet (Fromberg et al., 2010).

De gemiddelde hoeveelheden van DDT, HCB, en Chlordaan die in de monsters werden aangetroffen verschilden tussen de geanalyseerde soorten voedsel. Er waren echter geen soorten waarbij de gemiddelde concentraties significant hoger was in vergelijking tot de andere soorten, zoals bij de PCB's wel het geval was (Fromberg et al., 2010).

De resultaten uit deze Deense studie komen overeen met de resultaten die in een eerdere studie naar de inname van chloorkoolwaterstoffen zijn gevonden in Zweden. Ook in deze studie werden de hoogste concentraties PCB's aangetroffen in monsters van vissen. In het Zweedse onderzoek zijn echter minder soorten vissen geanalyseerd. In tegenstelling tot de studie van Fromberg et al., waar 672 monsters werden geanalyseerd, zijn in deze studie slechts 13 verschillende soorten vis en visproducten onderzocht op de aanwezigheid van PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen (Darnerud et al., 2006).

De gemiddelde concentratie PCB's in de vismonsters in deze studie is aan de hand van de som van 23 individuele soorten PCB's vastgesteld op 9,58 ng/g versgewicht, het gewicht van een product inclusief de hoeveelheid vocht dat het product bevat. Daarnaast is er gekeken naar het aandeel van dioxineachtige PCB's in de monsters. Dit is gedaan met behulp van de *Toxic Equivalent Factors* (TEF) en *Toxic Equivalent* (TEQ) concentraties van deze PCB's (zie box 1). In tabel 1 zijn de TEF-waardes van dioxines en mono- en non-ortho PCB's voor mensen en zoogdieren weergegeven, zoals die door Van den Berg et al. voor de Wereldgezondheidsorganisatie zijn opgesteld (Van den Berg et al., 1998).

De gemiddelde TEQ waarde van de monsters werd geschat op 0,500 pg WHO-TEQ/g versgewicht. Dit gebeurde aan de hand van de TEF's van 9 individuele dioxineachtige PCB's die in de monsters werden waargenomen (Darnerud et al., 2006).

Box 1. Toxic Equivalent Factor (TEF) en Toxic Equivalent (TEQ)

De TEF is een waarde die de toxiciteit van dioxines en dioxineachtige stoffen aangeeft vergeleken met de meest toxische component uit deze groep, 2,3,7,8-TCDD. De TEF-waardes van dioxines en dioxineachtige stoffen zijn vastgesteld op basis van alle beschikbare wetenschappelijke studies naar deze componenten en zijn vastgelegd door de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) (Van den Berg et al., 1998).

Om een TEF toegewezen te krijgen moeten de stoffen structureel verwant zijn aan PCDD's en PCDF's, aan de AhR kunnen binden, via de receptor biochemische en toxische reacties kunnen veroorzaken, en persistent zijn waardoor ze in de voedselketen accumuleren. De TEF geldt dus niet voor di-ortho PCB's (Van den Berg et al., 2006). Er zijn aparte TEF-waardes opgesteld voor zoogdieren, vissen en vogels. De TEF's die bij de zoogdieren zijn bepaald kunnen ook bij mensen worden toegepast (Van den Berg et al., 1998).

De TEF-waardes kunnen gebruikt worden om de *Toxic Equivalent* (TEQ) concentratie te bepalen. De TEQ geeft de toxiciteit van een mengsel van dioxines en dioxineachtige stoffen weer door de TEF van de individuele componenten te vermenigvuldigen met de concentraties van de componenten in een bepaald monster, en deze bij elkaar op te tellen (Van den Berg et al., 2006).

Met behulp van de TEQ concentratie kan op een eenduidige manier worden bepaald wat het risico van

Van de bestudeerde chloorkoolwaterstoffen komt DDT na de PCB's het meest voor in de onderzochte voedselgroepen. Ook bij DDT zijn de concentraties het hoogst in de monsters die van vissen zijn genomen. Het lijkt er dus op dat persistente chloorkoolwaterstoffen zich concentreren in de aquatische omgeving en dat biomagnificatie effectiever optreedt bij in het water levende organismen dan bij op het land levende dieren (Darnerud et al., 2006).

Tabel 1. Toxic Equivalency Factors (TEF) naar Van den Berg et al., die de toxiciteit van dioxines en dioxineachtige PCB's uitdrukken voor mensen en zoogdieren, in vergelijking met 2,3,7,8-TCDD (Baars et al., 2004; Van den Berg et al., 1998).

Structure	WHO-TEF
PCDDs and PCDFs	
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01
OCDD	0.0001
2,3,7,8-TCDF	0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01
OCDF	0.0001
Non-ortho PCBs	
3,3',4,4'-CB (77)	0.0001
3,4,4',5-CB (81)	0.0001
3,3',4,4',5-CB (126)	0.1
3,3',4,4',5,5'-CB (169)	0.01
Mono-ortho PCBs	
2,3,3',4,4'-CB (105)	0.0001
2,3,4,4',5-CB (114)	0.0005
2,3',4,4',5-CB (118)	0.0001
2,3,4,4',5-CB (123)	0.0001
2,3,3',4,4',5-CB (156)	0.0005
2,3,3',4,4',5'-CB (157)	0.0005
2,3',4,4',5,5'-CB (167)	0.00001
2,3,3',4,4',5,5'-CB (189)	0.0001

Omdat de blootstelling aan PCB's het hoogst is bij organismen uit het water, hebben Storelli et al. vissen en kreeftachtigen uit de Adriatische Zee onderzocht op de aanwezigheid van deze milieucontaminanten. In totaal werden van 19 verschillende soorten vissen en kreeftachtigen spierweefselmonsters genomen. Voor elk van deze soorten is zowel de totale concentratie PCB's als die van de afzonderlijke PCB's berekend, uitgedrukt in nanogram per gram vet. De hoogste concentraties werden gemeten bij de bodemvissen (benthische vissen). De mediaan lag bij deze vissoorten tussen de 32 en 235 ng/g vet. Bij de pelagische vissoorten, die niet op de bodem leven, lag de mediaan tussen 17 en 57 ng/g vet. Bij de kreeftachtigen varieerden de gemeten waardes van 13 tot 232 ng/g. Van PCB 138 en 153 werden de hoogste concentraties aangetroffen (Storelli et al., 2003).

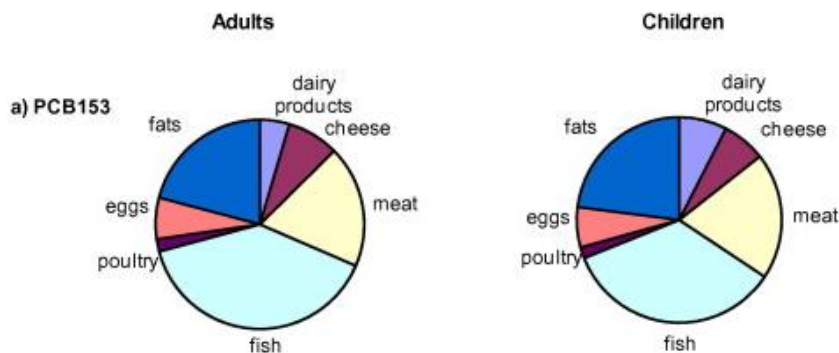
Het valt op dat de gemeten concentraties bij de bodemvissen veel hoger zijn dan de concentraties die bij de pelagische vissen en kreeftachtigen zijn waargenomen. Dit verschil zou verklaard kunnen worden door de interacties tussen organisme en sediment. Organismen die in nauw contact staan met het sediment worden volgens Storelli et al. via meerdere routes aan PCB's blootgesteld, namelijk door direct contact met het sediment, door respiratie van poriewater via de kieuwen en door incidentele opname van sediment (Storelli et al., 2003). Storelli et al. hebben de concentraties op een andere manier weergegeven dan in de andere studies die in dit hoofdstuk zijn besproken. In tegenstelling tot de onderzoek van Fromberg et al. en Darnerud et al., waarbij de concentratie werd uitgedrukt in microgram of nanogram per kilogram of gram van het totale gewicht, is de concentratie door Storelli et al. weergegeven in nanogram per gram vet van het spierweefsel van de onderzochte organismen. Op deze manier lijken de concentraties in deze studie dus hoger.

Uit deze verschillende studies kan worden opgemaakt dat de concentraties van PCB's het hoogst zijn bij vissen. Vermoedelijk vindt er dus meer accumulatie van PCB's plaats in de aquatische omgeving (Darnerud et al., 2006). Daarnaast lijkt de leefomgeving binnen het aquatische milieu een belangrijke rol te spelen bij de concentratie PCB's waaraan de vissen worden blootgesteld (Storelli et al., 2003).

De concentraties die in vissen worden waargenomen zeggen maar weinig over de effecten die bij mensen kunnen optreden door blootstelling aan PCB's via het eten van vissen. Daarom is het ook van belang om te kijken naar de daadwerkelijke hoeveelheid PCB's die mensen via voedsel binnenkrijgen. In de volgende paragraaf zal voor verschillende populaties besproken worden hoe hoog de blootstelling aan PCB's via het voedsel is.

1.2 Inname van PCB's door de mens

Om te onderzoeken hoe hoog de inname van PCB's is, hebben Fromberg et al. gedurende drie jaar gegevens verzameld over de eetgewoontes van de Deense bevolking. Dit gebeurde aan de hand van een vragenlijst onder 4120 Denen in de leeftijd van 4-75 jaar. Op basis van de enquête is de gemiddelde dagelijkse inname van specifieke voedingsmiddelen vastgesteld bij kinderen (4-14 jaar) en volwassenen (15-75 jaar). De gemiddelde inname van het product werd vervolgens vermenigvuldigd met de concentratie PCB's in dat product om zo de gemiddelde dagelijkse inname van PCB's te berekenen. De gemiddelde dagelijkse inname door volwassenen werd geschat op 900 ng PCB's per dag en is voornamelijk afkomstig van de consumptie van vis en vlees zoals in figuur 2 voor PCB 153 is weergegeven (Fromberg et al., 2010).



Figuur 2. De geschatte bijdrage van verschillende voedselsoorten aan de inname van PCB 153. Er is onderscheid gemaakt tussen de inname van volwassenen (15-75) en kinderen (4-14) (Fromberg et al., 2010).

De inname per kilogram lichaamsgewicht verschilt tussen volwassenen en kinderen. Voor volwassenen is de PCB inname vastgesteld op 12,6 ng/kg lichaamsgewicht/dag en bij kinderen op 24,9 ng/kg lichaamsgewicht/dag. De hogere concentratie bij kinderen wordt veroorzaakt door de relatief hoge inname van bepaalde producten, zoals melk, in verhouding tot het lichaamsgewicht en wordt niet veroorzaakt door de concentraties in de producten die kinderen eten (Fromberg et al., 2010). Het 95e percentiel bij de groep kinderen was 48,0 ng/kg lichaamsgewicht/dag. Al deze concentraties bevinden zich nog onder de Aanvaardbare Dagelijkse Inname (ADI) van 0,1 µg (Fromberg et al., 2010).

De gemiddelde inname die in deze studie is gemeten is twee keer zo hoog als de inname die in een Nederlandse studie van Baars et al. werd geschat (Baars et al., 2004; Fromberg et al., 2010). Ook in het Nederlandse onderzoek werd aan de hand van een vragenlijst het eetpatroon van de populatie in kaart gebracht. Voor het onderzoek werd door 6250 personen twee dagen lang bijgehouden hoeveel ze aten van bepaalde producten. Om vervolgens uit deze gegevens de gemiddelde inname van chloorkoolwaterstoffen op de lange termijn te bepalen, is gebruikt gemaakt van een statistische analyse waarmee de gemiddelde inname van PCB's als functie van de leeftijd is berekend. Daarbij werd onderscheid gemaakt tussen inname van de dioxines en dioxineachtige PCB's, en de inname van indicator PCB's (Baars et al., 2004).

Aan de hand van de resultaten van de statistische analyse werd de gemiddelde inname van PCB's over 70 jaar geschat, en vergeleken met de vastgelegde ADI van 2 pg WHO-TEQ per kilogram lichaamsgewicht per dag. Uiteindelijk werd de gemiddelde inname van dioxines en dioxineachtige PCB's geschat op 1,2 pg WHO-TEQ/kg lichaamsgewicht/dag. De gemiddelde inname van indicator PCB's gedurende 70 jaar wordt geschat op 5,6 ng/kg lichaamsgewicht/dag. Deze hoeveelheden zijn lager dan de hoeveelheden die in eerdere studies naar de PCB inname van de Nederlandse bevolking werden gemeten (Baars et al., 2004).

Hoewel de inname van PCB's via het voedsel de afgelopen jaren is afgenomen, werd er bij een klein deel van de Nederlandse bevolking een relatief hoge inname van chloorkoolwaterstoffen waargenomen. Geschat werd dat 8% van de populatie blootgesteld wordt aan hoeveelheden die hoger zijn dan de ADI (Baars et al., 2004).

Ook binnen de Zweedse populatie was de gemiddelde dagelijkse inname dioxineachtige PCB's per persoon beneden de ADI. De inname werd in deze studie geschat door eerst de jaarlijkse consumptie van verschillende soorten voedsel per inwoner te berekenen. Vervolgens namen de onderzoekers van elk product 1% van het gewicht van de jaarlijkse hoeveelheid per inwoner, en dit monster werd geanalyseerd op de aanwezigheid van chloorkoolwaterstoffen. De concentratie van de afzonderlijke chloorkoolwaterstoffen in het monster werd vervolgens vermenigvuldigd met het gewicht van het genomen monster. Dit werd weer vermenigvuldigd met 100 om zo de hoeveelheid PCB's vast te stellen die de Zweedse bevolking jaarlijks per hoofd binnenkrijgt. Op deze manier kwamen Darnerud et al. uit op een gemiddelde dagelijkse inname van 96 pg WHO-TEQ per inwoner per dag voor dioxines en dioxineachtige PCB's. Dit komt neer op 1,3 pg WHO-TEQ/kg/dag en is dus onder de ADI. Voor de som PCB's bedroeg de gemiddelde dagelijkse inname 615 ng per persoon (Darnerud et al., 2006).

Bij een onderzoek naar de inname van PCB's binnen de Italiaanse bevolking werd alleen naar de bijdrage van de visconsumptie gekeken. Storelli et al. hebben de gemiddelde dagelijkse inname van 6 dioxineachtige PCB's voor elke geanalyseerde vissoort berekend. De gemiddelde visconsumptie in Italië werd aan de hand van gegevens van het Italiaanse instituut voor statistiek (ISTAT) geschat op ruwweg 60 gram per persoon per dag. Op basis van deze gegevens is de gemiddelde dagelijkse TEQ inname per kilogram lichaamsgewicht berekend, waarbij werd uitgegaan van een gewicht van 60 kilogram. De ADI die in deze studie is aangehouden is 1-4 pg WHO-TEQ/kg lichaamsgewicht/dag, en is dus hoger dan in de andere studies die in dit hoofdstuk zijn besproken. Voor bijna alle vissoorten was de gemiddelde dagelijkse TEQ inname lager dan deze gestelde norm. De TEQ-waarden voor de makreel en zeepaling waren echter hoger dan de ADI (Storelli et al., 2003).

1.3 Risico

Uit de resultaten van de studies die in dit hoofdstuk zijn behandeld blijkt dat de inname van PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen is verminderd ten opzichte van eerdere studies die in de jaren '90 zijn gedaan. Daarnaast bevinden bijna alle gemiddelde dagelijkse innames die in de onderzoeken zijn berekend zich onder de gestelde norm van 2 pg WHO-TEQ/kg lichaamsgewicht/dag (Baars et al., 2004; Darnerud et al., 2006; Fromberg et al., 2010; Storelli et al., 2003). Dat betekent echter niet dat blootstelling aan PCB's via het voedsel geen risico's met zich meebrengt.

Hoewel de gemiddelde dagelijkse inname van dioxines en PCB's zich in elke studie onder het limiet van de ADI bevindt, zijn er subpopulaties waarbij de blootstelling aan PCB's hoger is dan het gemiddelde (Baars et al., 2004). Er zijn verschillende factoren die een rol kunnen spelen bij de verschillen tussen populaties. Zo zouden de verschillen verklaard kunnen worden door een verschil in het eetpatroon. Uit de studie van Storelli et al. blijkt dat het eetpatroon in zekere mate locatieafhankelijk is. In Noord-Italië wordt er bijvoorbeeld weinig vis gegeten, terwijl vis in het zuiden een belangrijke bestanddeel van het dieet is. De inname van chloorkoolwaterstoffen zal dus hoger zijn in Zuid-Italië, en daarom kan het gezondheidsrisico kan verschillen afhankelijk van de locatie (Storelli et al., 2003). Ook uit de studie van Darnerud et al. in Zweden blijkt het belang van de locatie van een populatie. De concentraties PCB's die in het voedsel werden teruggevonden waren hoger in de zuidelijke, dichtbevolkte gebieden, waar de omgeving wellicht meer vervuild is geraakt met chloorkoolwaterstoffen (Darnerud et al., 2006).

Het is echter moeilijk om de gezondheidsrisico's van de blootstelling aan PCB's binnen een bepaalde populatie in te schatten. Individuele PCB's hebben namelijk verschillende toxicologische eigenschappen en kunnen verschillende effecten veroorzaken (Fromberg et al., 2010). Daarnaast zijn de *di-ortho* PCB's, die geen dioxineachtige werking hebben, niet meegenomen in de berekeningen van de ADI, omdat ze geen TEF-waarde hebben en er weinig bekend is over de toxische werking van deze PCB's. Het is dus niet duidelijk of de effecten die optreden toegeschreven moeten worden aan de dioxines en de dioxineachtige PCB's, of dat de *di-ortho* PCB's ook kunnen leiden tot toxische effecten (Baars et al., 2004; Fromberg et al., 2010). Om meer inzicht te krijgen in de mogelijke effecten van chloorkoolwaterstoffen, zullen in het volgende hoofdstuk verschillende proefdierstudies worden besproken waarin de effecten van individuele PCB's en mengsels van chloorkoolwaterstoffen zijn bestudeerd.

Hoofdstuk 2 Immunotoxische effecten van Chloorkoolwaterstoffen

Blootstelling aan PCB's kan leiden tot nadelige gezondheidseffecten voor zowel mens als dier. Het immuunsysteem is gevoelig voor blootstelling aan PCB. De afgelopen jaren zijn er verschillende studies verschenen naar de effecten van PCB's op het immuunsysteem, waaruit blijkt dat PCB's op meerdere manieren de immunorespons kunnen beïnvloeden (Lyche et al., 2006). PCB's blijken onder andere veranderingen te veroorzaken in de proliferatie van lymfocyten, en de cellulaire en humorale immunorespons te onderdrukken (Lavoie & Grasman, 2007). Deze veranderingen in het functioneren van het immuunsysteem zijn waargenomen in zowel proefdieren als in het wild levende diersoorten, en ook bij de mens. Deze veranderingen brengen risico's met zich mee, omdat onderdrukking van het immuunsysteem er toe kan leiden dat dieren gevoeliger worden voor infecties door virussen en andere pathogenen. Bij proefdierstudies in muizen werd aangetoond dat muizen die via hun dieet PCB toegediend kregen gevoeliger waren voor virale infecties, en daar vaker aan sterven dan muizen die niet werden blootgesteld aan PCB's (Imanishi et al., 1980). Daarnaast zijn proefdieren die aan PCB's worden blootgesteld gevoeliger voor infecties met gramnegatieve bacteriën en protozoa (Mori et al., 2006). Ook bij in het wild levende diersoorten is er een verband gevonden tussen PCB blootstelling en gevoeligheid voor infecties. Bij bruinvissen die stierven aan infectieziekten werden hogere concentraties PCB's teruggevonden, dan bij bruinvissen die doodgingen aan fysieke verwondingen (Lavoie & Grasman, 2007).

In dit hoofdstuk worden de immunotoxische effecten van blootstelling aan verschillende soorten PCB's behandeld. Hierbij zullen zowel proefdierstudies als ecotoxicologische studies bij in het wild levende diersoorten worden behandeld. In tabel 2 zijn verschillende studies naar de effecten van PCB's op het immuunsysteem samengevat. Twee onderzoeken worden in detail besproken en vergeleken met de effecten die zijn gemeten in de andere studies die in de tabel staan. De immunotoxische effecten van PCB blootstelling bij de mens komen in hoofdstuk 3 aan bod.

Tabel 2. Effecten van blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen op het immuunsysteem

Species	Component	Blootstelling	Concentratie	Immuunrespons	Referentie
Muis (<i>Mus musculus</i>)	PCB 138, 153, 169, 180 TCDD individueel en in mengsels	in vitro in vitro	5 ppm 0,05 ppb	↓ (17%-63%) in vitro Con A-geïnduceerde T-celproliferatie – in vitro Con A-geïnduceerde T-celproliferatie bij alleen TCDD	Mori <i>et al.</i> , 2006
	PCB 138, 153, 169, 180 TCDD individueel en in mengsels	in vitro in vitro	5 ppm 0,05 ppb	↓(11%-77%)in vitro LPS-geïnduceerde B-celproliferatie alle indiv. congenen en mengsels	Mori <i>et al.</i> , 2008
	PCB 126 en PCB 169	oraal	200 µg/kg lichaamsgewicht PCB 126 2000 of 5000 µg/kg PCB 169	↓concentratie IgM na immunisatie OVA PCB 126 en 169 ↓IL-5 productie bij PCB 126 – concentratie IgG1 na immunisatie OVA PCB 126 en 169 ↓ gewicht thymus en aantal thymocyten PCB 126	Pan <i>et al.</i> , 2004
	Aroclor 1242 en 1254	Subcutane injectie prenataal en lactatie	50 mg/kg lichaamsgewicht, totaal 300mg/kg	– in vitro Con A-geïnduceerde lymfocytproliferatie ↓in vitro IL-2 productie A1242 en A1254 ↓Aantal WBC en lymfocyten (niet sign. wel trend) ↓ thymus somatic index A1254 (28 d.) ↓ % CD4+ en CD8+ A1242 (7 d.) ↑ % CD4+CD8+ A1242 (7 d.)	Arena <i>et al.</i> , 2003
	PCB 52 en PCB 77	in vitro	PCB 52 (0,04 - 5 µM) PCB 77 (0,2 - 10 µM)	↓ % thymocyten PCB 52 (5 µM) ↑ [Ca ²⁺] in thymocyten bij PCB 52 (> 1 µM) en PCB 77 (5 en 10 µM) ↑ thymocyte membrane fluidity bij PCB 52 (5 µM)	Yilmaz <i>et al.</i> , 2006
Kip (<i>Gallus domesticus</i>)	PCB 126 en PCB 77	in ovo	0,25 and 0,5 ng/g en 0,64 ng/g gewicht ei	↓ anti-SRBC respons bij 28 dagen, zowel PCB 126 als 77 – PHA huid test respons bij PCB 126 (0,25 ng/g) ↑ 30-50% in vitro PHA of ConA-geïnduceerde lymfocytproliferatie PCB 126 (0,5 ng/g) ↓ 40% bij in vitro PHA-geïnduceerde lymfocytproliferatie PCB 126 (0,25 ng/g) ↓60% in vitro PHA-geïnduceerde lymfocytproliferatie PCB77 ↓aantal thymocyt en bursa cellen bij PCB 126 (0,128 ng/g)	Lavoie en Grasman, 2007
	PCB 126 DCCO	in ovo	0,55; 0,96; 1,38; 1,79 ng TEQ/egg 1,2; 2,4; 3,6; 4,9 ng TEQ/egg	– in vitro PHA-geïnduceerde lymfocytproliferatie ↓ anti-SRBC respons PCB 126, alle doses ↑ anti-SRBC titer bij 1,2 of 2,4 ng TEQ/egg DCCO (niet sign.) ↓ thymus/bursa index bij PCB 126 1,79 ng TEQ/egg – thymus/bursa massa	Lavoie <i>et al.</i> , 2007

Species	Component	Blootstelling	Concentratie	Immuunrespons	Referentie
Grote Burgemeester (<i>Larus hyperboreus</i>)	POP mengsel	oraal		– Antilichaamrespons EHV, REO en TET ↓concentratie IgG en IgM ↑ In vitro PHA-geïnduceerde lymfocytoproliferatie ↑ In vitro Con A-geïnduceerde lymfocytoproliferatie PCB 99 en 153	Sagerup <i>et al.</i> , 2009
Geit (<i>Capra hircus</i>)	PCB 153 en PCB 126	oraal placenta en lactatie	98 µg/kg lichaamsgewicht per dag en 49 ng/kg-d van 60e dag zwangerschap tot bevalling	↓concentratie IgG van dag 60 - bevalling bij PCB 126 ↓Antilichaamrespons TET tijdens zwangerschap bij PCB 153 – Antilichaamrespons EIV-1 – Antilichaamrespons <i>M. avium paratuberculosis</i> ↓concentratie IgG PCB 153 (wk 6) ↓Maternale antilichamen <i>M. hemolytica</i> PCB 153 (t/m wk 4) ↓Maternale antilichamen <i>A. pyogenes</i> PCB 153 (t/m wk 4) ↓Maternale antilichamen REO-1 alle behandelde groepen (vanaf wk 2) ↑Maternale antilichamen TET PCB 126 (t/m wk 8)k ↑Antilichaamrespons EIV-1 PCB 153 ↓Antilichaamrespons <i>M. avium paratuberculosis</i> PCB 153 (t/m 8 wk) – Antilichaamrespons difterie toxoïd	Lyche <i>et al.</i> , 2006
	PCB 153 en PCB 126	oraal placenta en lactatie	98 µg/kg lichaamsgewicht per dag en 49 ng/kg-d van 60e dag zwangerschap tot bevalling 5800 ng/g vet en 0,49 ng/g 9 maanden postpartum	↑Aantal WBC, neutrofielen, en lymfocyten PCB 153 (2 wk) ↓Aantal monocyten PCB 126 bij wk 2,4 en 8 ↓In vitro PHA-geïnduceerde lymfocytoproliferatie PCB 153 (wk 2,4 en 8) ↓In vitro Con A-geïnduceerde lymfocytoproliferatie PCB 153 (wk 2,4 en 8)	Lyche <i>et al.</i> , 2004
Gewone zeehond (<i>Phoca vitulina</i>)	PCB mix van Aroclor 1242 en 1260	in vitro	3 en 30 ng/ml-1	↓Respiratory burst activiteit PMNC (30 ng/ml-1) ↓Fagocyterende activiteit PMNC (3 en 30 ng/ml-1) – Cytotoxische activiteit PBMC	Hammond <i>et al.</i> , 2005
	PCB 138, 153, 169, 180 TCDD individueel en in mengsels	in vitro	5 ppm 0,05 ppb	↑ (44%) In vitro LPS-geïnduceerde B-celproliferatie PCB 153+180 ↑ In vitro LPS-geïnduceerde B-celproliferatie PCB 180 + TCDD	Mori <i>et al.</i> , 2008

Species	Component	Blootstelling	Concentratie	Immuunrespons	Referentie
Gewone zeehond (Phoca vitulina)	PCB 138, 153, 169, 180 TCDD individueel en in mengsels	in vitro	5 ppm 0,05 ppb	↑ (35%-216%) In vitro Con A-geïnduceerde T-celproliferatie (niet in PCB 138 + 180 en PCB 123 + 153 + 180 + TCDD)	Mori et al., 2006
Grijze zeehond (Halichoerus grypus)		in vitro	3 en 30 ng/ml-1	– Respiratory burst activiteit PMNC – Fagocyterende activiteit PMNC – Cytotoxische activiteit PBMC	Hammond et al., 2005
Tuimelaar (Tursiops truncatus)	PCB 138, 153, 169, 180 TCDD individueel en in mengsels	in vitro	5 ppm 0,05 ppb	↑ (46%-61%) In vitro LPS-geïnduceerde B-celproliferatie PCB 153+180, PCB 180 + TCDD, 138 + 153 + TCDD, 153 + 169 + TCDD, en 138 + 169 + 180	Mori et al., 2008
	PCB 138, 153, 169, 180 TCDD individueel en in mengsels	in vitro	5 ppm 0,05 ppb	↓(29%-32%) in vitro Con A-geïnduceerde T-celproliferatie PCB 138 + 153 + 169 + 180 en PCB 138 + 153 + 169 + 180 + TCDD ↑ (31%) In vitro Con A-geïnduceerde T-celproliferatie PCB 169 + TCDD	Mori et al., 2006
Bruine dwergmeerval (Ameiurus nebulosus)	Aroclor 1248	i.p. injectie in vivo	50 µg of 5mgkg ⁻¹	↓Antilichaamrespons E. ictaluri ↑In vitro PHA-P-geïnduceerde T-celproliferatie ↓bactericidal activity of adherent anterior kidney leukocytes	Iwanowicz et al., 2009

2.1 Effecten van in ovo toediening van PCB's bij vogels

Bij visetende vogels zoals meeuwen, die voorkomen in gebieden die sterk met PCB's zijn vervuild, zijn verschillende veranderingen in het immuunsysteem waargenomen (Lavoie & Grasman, 2007). Om het verband tussen PCB blootstelling en immunosuppressie in vogels te onderzoeken, zijn gecontroleerde experimenten met kippen uitgevoerd. De effecten van PCB blootstelling tijdens de embryonale ontwikkeling zijn door Lavoie en Grasman onderzocht door de effecten van *in ovo* blootstelling van kippen te bestuderen. Daarbij zijn PCB's in de eieren geïnjecteerd om te kijken of blootstelling aan PCB's voordat de kuikens uit het ei komen, invloed heeft op het functioneren van het immuunsysteem. Blootstelling na het uitkomen van de eieren is hier niet onderzocht. In het onderzoek is gekeken naar de effecten van twee individuele PCB's, PCB 126 en PCB 77 in vergelijking tot een controlegroep (Lavoie & Grasman, 2007; Lavoie et al., 2007).

Een groep werd behandeld met 0,25 ng PCB 126/gram gewicht per ei, en een groep met 0,5 ng/g. De effecten werden vergeleken met een controlegroep die behandeld was met zonnebloemolie. Daarnaast werden een dosis van 0,25 ng/g PCB 126 en 0,64 ng/g PCB 77 met elkaar vergeleken. In het tweede onderzoek is er gekeken naar de effecten van PCB 126, en een mengsel van verschillende chloorkoolwaterstoffen dat uit eieren van de Amerikaanse aalscholver is gehaald (DCCO mengsel). Hier zijn doses tussen de 0,100 en 0,325 ng/g PCB 126 toegediend, en doses tussen de 0,0625 en 0,25 ng/g DCCO. De gebruikte concentraties kwamen overeen met gevonden concentraties in sterk vervuilde gebieden, en werden in de luchtkamer van de eieren geïnjecteerd. Om te bepalen of er veranderingen optraden in het immuunsysteem is gekeken naar de *in vitro* lymfocytoproliferatie, de antilichaamrespons, en of er atrofie van de thymus en bursa plaatsvond na blootstelling (Lavoie & Grasman, 2007; Lavoie et al., 2007). Onderdrukking van de lymfocytoproliferatie kan het functioneren van het immuunsysteem ernstig verstoren (Lyche et al., 2004).

Om de effecten op de lymfocytoproliferatie te meten kan ook gebruik worden gemaakt van een PHA huidtest, waarbij de T-cel afhankelijke ontstekingsrespons wordt bepaald (Lavoie & Grasman, 2007). Phytohemaglutinine is een T cel mitogeen. Het onderhuids injecteren van PHA zorgt ervoor dat T cellen gaan prolifereren en differentiëren, en stimuleert de productie van cytokines (Grasman, 2002). Op de plaats van injectie raakt de huid ontstoken. Er ontstaat een zwelling, de huid wordt rood, en er vindt er cellulaire infiltratie van leukocyten plaats. De grootte van de zwelling kan worden gemeten en als index gebruikt worden om de cellulaire immunrespons te bepalen (Hausmann et al., 2005).

Blootstelling aan PCB's zorgde alleen in bij een dosis van 0,25 ng/g PCB 126 voor een afname van 40% van de lymfocytoproliferatie na *in vitro* stimulatie met PHA. Bij blootstelling aan 0,5 ng/g PCB 126 was de lymfocytoproliferatie tussen de 30-50% hoger na stimulatie met PHA of ConA. Blootstelling aan PCB 77 zorgde voor een onderdrukking van de lymfocytoproliferatie van 60% na stimulatie met PHA. Aan de hand van de PHA huidtest geen significante resultaten gevonden na blootstelling aan PCB 126 (Lavoie & Grasman, 2007).

Uit de resultaten van Lavoie en Grasman blijkt dat lymfocytmithogenese zowel onderdrukt als gestimuleerd kan worden door prenatale blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen, maar dat de veranderingen die daardoor optreden in het immuunsysteem van het kuiken verwaarloosbaar zijn (Lavoie & Grasman, 2007). Hoewel er geen significante verschillen in de lymfocytoproliferatie werden gevonden, leidde zowel PCB 126 als PCB 77 blootstelling vier weken na in ovo toediening tot een afname in de productie van antilichamen (Lavoie & Grasman, 2007). De antilichaamrespons werd gemeten door de kuikens te injecteren met rode bloedcellen van schapen (SRBC).

Als reactie daarop maken de kuikens antilichamen gericht tegen de antigenen van de SRBC. Hoe hoger de antilichaamtiter die in het plasma wordt gemeten, hoe beter de humorale immuunrespons functioneert (Snoeijs et al., 2007). In ovo blootstelling aan individuele PCB's is dus al voldoende om in kuikens veranderingen in de immuunrespons te veroorzaken (Lavoie & Grasman, 2007). Bij blootstelling aan een mengsel van chloorkoolwaterstoffen uit de eieren van de Amerikaanse aalscholver werd juist een hogere antilichaamrespons na injectie van SRBC gemeten. Het zou kunnen dat er in dit geval hormese optreedt, wat betekent dat blootstelling aan lage concentraties juist positieve effecten op het functioneren van het immuunsysteem heeft (Lavoie et al., 2007).

2.2 Effecten van toedienen van PCB 153 en 126 bij geitenjongen

Ook bij geiten is gekeken naar de immunotoxische effecten van PCB's. Net als bij de studies in kippen is hier gekozen voor twee verschillende PCB's, met verschillende chemische en toxicologische eigenschappen. In tegenstelling tot bij het onderzoek van Lavoie en Grasman is hier niet gekozen voor PCB 77, maar voor PCB 153. PCB 153 heeft een lage affiniteit voor de AhR, een lage acute toxiciteit, en het is nog niet bekend op welke manier blootstelling aan PCB 153 leidt tot immunotoxische effecten (Lyche et al., 2006). Er is gekeken naar de humorale immuunrespons en naar de effecten op lymfocytoproliferatie bij blootstelling aan PCB's (Lyche et al., 2004; Lyche et al., 2006).

De PCB's bij de geiten werden oraal toegediend vanaf de zestigste dag van de zwangerschap, tot de bevalling in concentraties van 98 µg/kg lichaamsgewicht per dag PCB 153 en 49 ng/kg-dag PCB 126. Dat is na de organogenese, maar tijdens het ontstaan van het immuunsysteem (Lyche et al., 2006). Bij de kip vond alleen blootstelling plaats voordat de kuikens uit het ei kwamen. Maar omdat de geiten PCB oraal krijgen toegediend tijdens de zwangerschap, vindt er ook postnatale blootstelling plaats via de moedermelk. Moedermelk is namelijk een belangrijke route waarlangs lipofiele componenten uitgescheiden worden, die door het lichaam niet afgebroken kunnen worden (Lyche et al., 2004). Het immuunsysteem van pasgeboren zoogdieren is nog niet volledig, waardoor de pasgeborene nog niet goed in staat is zelf antilichamen aan te maken. Blootstelling aan allerlei pathogenen is echter groot na de geboorte, er vindt een grote verandering van omgeving plaats, van de baarmoeder naar een niet-steriele omgeving. Daarom krijgen de jongen nog antilichamen van de moeder via de moedermelk (Lyche et al., 2006).

De lymfocytoproliferatie in geitenjongen werd in vitro gemeten met vier verschillende mitogenen, waaronder PHA en Concanavaline A. Bij blootstelling aan PCB 153 was de lymfocyterespons op PHA en Con A lager dan in de controlegroep, terwijl er in de groep jongen die aan PCB 126 werden blootgesteld geen duidelijke effecten op de lymfocytoproliferatie werden waargenomen. De afname in de lymfocyterespons bij blootstelling aan lage doses van PCB 153 is opmerkelijk, omdat er op grond van diens lage affiniteit voor de AhR geen immunotoxische effecten werden verwacht (Lyche et al., 2004). Er zijn niet veel studies verschenen waaruit blijkt dat PCB 153 invloed heeft op de lymfocyterespons, in de meeste gevallen werden er geen significante verschillen waargenomen. Zoals uit tabel 2 blijkt werd alleen bij in vitro blootstelling aan PCB 153 in de noordelijke zeebeer (*Callorhinus ursinus*) een toename gevonden in de Con A geïnduceerde lymfocytoproliferatie (Mori et al., 2006).

Naast de lymfocytoproliferatie is er ook gekeken naar de effecten van PCB's op de immuniteit van de moeder en de postnatale humorale immuunrespons. Daarbij werd gekeken naar de totale hoeveelheid IgG, de hoeveelheid immunoglobulines die werden aangemaakt tegen specifieke microbes, en de immuunrespons na vaccinatie van de jongen. De maternale immuniteit werd gemeten door te kijken naar de totale hoeveelheid IgG, van de 60^e dag van de dracht tot de bevalling. Bij blootstelling aan PCB 126 werd een significante afname van de hoeveelheid IgG waargenomen, maar niet bij PCB 153. Op het moment van de bevalling waren er tussen de testgroepen echter geen waarneembare verschillen meer in de totale hoeveelheid IgG (Lyche et al., 2006). Hoewel de concentraties IgG in de geiten op het moment dat de jongen worden geboren gelijk zijn, worden in de PCB-153 groep tot 6 weken na de geboorte lagere concentraties IgG waargenomen. Dit komt waarschijnlijk doordat het jong niet meer goed in staat is IgG van de moeder te absorberen (Lyche et al., 2006).

Ook werd de overdracht van het aantal antilichamen tegen *A. pyogenes*, *M. haemolytica*, reovirus (REO-1), influenza virus (EIV-1), en tetanus toxoïd van de moeder bepaald, door de antilichaamtiter in het serum van de jongen te meten. Blootstelling van de moeder aan PCB 153 zorgde in de eerste vier weken voor een lager aantal maternale antilichamen tegen *A. pyogenes* en *M. hemolytica*. Het aantal antilichamen van de moeder tegen reovirus nam vanaf de tweede week af bij zowel blootstelling aan PCB 153 als aan PCB 126. De antilichaamtiter tegen tetanus toxoïd nam echter toe bij blootstelling aan PCB 126 in de eerste acht weken na de geboorte (Lyche et al., 2006).

Om de effecten van PCB blootstelling op de neonatale immuunrespons te meten werden de geitenjongen geïmmuniseerd met verschillende antigenen toen ze twee weken oud waren. Na immunisatie werd de hoeveelheid antilichamen tegen EIV-1, *M. avian paratuberculosis*, en difterie toxoïd gemeten. Blootstelling aan PCB 153 leidde tot een hogere antilichaamrespons tegen influenza virus, maar tot een lagere respons tegen *M. avian paratuberculosis* in de eerste acht weken na de geboorte. De antilichaamtiter tegen difterie toxoïd verschilde niet significant tussen de groepen (Lyche et al., 2006).

De antilichaamrespons die wordt gemeten kan echter afhankelijk zijn van het aantal maternale antilichamen. Zo kan het bijvoorbeeld voorkomen dat bij een laag aantal maternale antilichamen, veroorzaakt door PCB 153 blootstelling, er juist een versterkte antilichaamrespons optreedt na vaccinatie, wat waarschijnlijk is gebeurd na vaccinatie tegen EIV-1 (Lyche et al., 2006). Uit de studies blijkt dus dat zowel de maternale als neonatale

immuunrespons door PCB's worden beïnvloed, en dat het verschil in waargenomen effecten bij blootstelling aan PCB 153 en PCB 126 erop wijst dat immunotoxiciteit niet alleen via AhR afhankelijke mechanismen wordt geïnduceerd, maar dat er ook andere mechanismen, die niet via de AhR werkzaam zijn, een rol spelen (Lyche et al., 2004; Lyche et al., 2006).

De waargenomen effecten op het immuunsysteem bij studies in de kip en geit zullen in de volgende paragraaf worden vergeleken met de andere studies naar de immunotoxische effecten van blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen in tabel 2. Daarbij zal ook worden gekeken welke effecten mengsels van chloorkoolwaterstoffen op het immuunsysteem hebben.

2.3 Verschillen in de lymfocytoproliferatie

Het is opvallend dat er bij blootstelling aan individuele PCB's in kippen wel effecten waarneembaar zijn op de lymfocytoproliferatie, maar dat deze niet worden teruggevonden bij blootstelling aan een mengsel van verschillende chloorkoolwaterstoffen, aangezien er in een mengsel meerdere PCB's zitten die toxische effecten kunnen veroorzaken. Wellicht is in ovo blootstelling aan een mengsel van chloorkoolwaterstoffen niet voldoende om immunotoxische effecten te veroorzaken en is blootstelling van grotere invloed wanneer de kuikens uit het ei zijn. Zoals in tabel 2 is te zien waren er bij het onderzoek van Sagerup et al. naar Grote Burgemeesters (*Larus hyperboreus*), die aan een mengsel van chloorkoolwaterstoffen werden blootgesteld, wel effecten waarneembaar op de lymfocytoproliferatie. De kuikens in dit experiment kregen tot 8 weken nadat ze uit het ei waren gekomen een mengsel van *persistent organic pollutants* toegediend. De respons op PHA was sterker na PCB blootstelling (Sagerup et al., 2009). Ook in de gewone zeehond (*Phoca vitulina*) was er bij blootstelling aan vijf verschillende chloorkoolwaterstoffen, zowel individueel als in mengsels sprake van een sterkere T-celproliferatie na in vitro stimulatie met Concanavaline A. Bij geiten en muizen werd er echter een afname in de lymfocytoproliferatie waargenomen (Lyche et al., 2004; Mori et al., 2006). De verschillen in de lymfocytoproliferatie lijken dus niet consistent.

Alleen bij blootstelling aan TCDD werden er geen significante verschillen gevonden (Mori et al., 2006). Opmerkelijk is dat er in muizen bij blootstelling aan twee commerciële PCB mengsels, Aroclor 1242 en 1254, geen significante verschillen waarneembaar zijn wanneer de lymfocyterespons in vitro wordt geïnduceerd met ConA (Arena et al., 2003). Blootstelling aan Aroclor 1248 zorgde bij de bruine dwergmeerval (*Ameiurus nebulosus*) juist voor een hogere T-celproliferatie na in vitro stimulatie met PHA-P (Iwanowicz et al., 2009).

Er zijn ook soorten waarbij de lymfocytmithogenese, net als na in ovo blootstelling van kippen, zowel wordt onderdrukt als gestimuleerd. Een voorbeeld daarvan is de tuimelaar (*Tursiops truncatus*). Zoals in tabel 2 is te zien werd er, afhankelijk van het mengsel waaraan cellen van de dolfijnen werden blootgesteld, een toename of afname van de lymfocytoproliferatie geconstateerd. Tuimelaars bleken echter voor slechts drie van de 26 geteste mengsels gevoelig te zijn, terwijl muizen voor vrijwel alle mengsels en individuele PCB's gevoelig waren (Mori et al., 2006).

De verschillen in lymfocytproliferatie die tussen studies worden gevonden kunnen worden toegeschreven aan een aantal factoren. Ten eerste kunnen de verschillen worden veroorzaakt door de concentraties waaraan de dieren worden blootgesteld. Ook soortspecifieke verschillen kunnen een rol spelen. Ten slotte kunnen de verschillen in de lymfocytrespons het effect zijn van chemische interacties tussen de chloorkoolwaterstoffen of verschillen in compositie van de chloorkoolwaterstoffen (Lyche et al., 2004; Mori et al., 2006).

2.4 Verschillen in de antilichaamrespons

Blootstelling aan individuele PCB's en mengsels van chloorkoolwaterstoffen is ook van invloed op de antilichaamrespons. Zoals in tabel 2 is te zien, is er in verschillende studies sprake van een onderdrukking van de antilichaamrespons na blootstelling aan PCB's. Al eerder werd genoemd dat er bij de pasgeboren geiten sprake is van een afname in de overdracht van het aantal antilichamen van de moeder tegen verschillende pathogenen na blootstelling aan PCB's. Dit hoeft echter geen effect op de immuunrespons te hebben (Lyche et al., 2006). In de andere studies die in de tabel worden behandeld is niet gekeken naar de overdracht van antilichamen van de moeder, maar wel naar de antilichaamrespons na immunisatie van de dieren. Zo was er na immunisatie van kuikens met SRBC een lagere totale IgG respons na in ovo blootstelling aan PCB 126 en PCB 77 (Lavoie & Grasman, 2007). Ook bij de Grote Burgemeesters leidde blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen tot een onderdrukking van de humorale immuunrespons. De kuikens waren minder goed in staat antilichamen te produceren tegen het influenza virus (EIV), en hadden lagere hoeveelheden IgG en IgM in hun serum. De verlaagde antilichaamrespons komt overeen met de resultaten van Lavoie en Grasman. De verminderde antilichaamrespons zou ervoor kunnen zorgen dat de vogels minder goed weerstand kunnen bieden tegen een uitbraak van een epidemie (Lavoie & Grasman, 2007; Sagerup et al., 2009).

Chloorkoolwaterstoffen kunnen zorgen voor effecten op de B-celproliferatie. In vitro stimulatie met LPS zorgde voor een zwakkere B-celrespons bij muizen. Bij zeezoogdieren worden maar in een paar gevallen effecten op de B-celproliferatie waargenomen, maar in tegenstelling tot bij de muis is er bij zeezoogdieren juist sprake van een toename in de B-celrespons na in vitro stimulatie met LPS. De meeste mengsels van chloorkoolwaterstoffen leidden echter helemaal niet tot effecten op de B-cel proliferatie in bloedmonsters van zeezoogdieren (Mori et al., 2008).

Blootstelling aan individuele PCB's en chloorkoolwaterstoffen leidt dus tot veranderingen in de humorale immuunrespons omdat proliferatie van B cellen nodig is voordat ze kunnen differentiëren in antilichaamproducerende plasmacellen of geheugencellen. Verminderde proliferatie kan zo een afname in de productie van antilichamen veroorzaken. Een verhoogde B-cel proliferatie kan echter resulteren in anergie, waardoor er geen effectieve respons meer optreedt bij aanwezigheid van pathogenen (Mori et al., 2008).

2.5 Conclusie

Uit de studies die in tabel 2 zijn samengevat blijkt dat blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen verschillende effecten kan hebben op het immuunsysteem. Daarbij is er een verschil in de waargenomen effecten tussen individuele PCB's en mengsels van chloorkoolwaterstoffen. Bij kippen was er na in ovo blootstelling aan PCB 126 (0,25 en 0,5 ng/g) en PCB 77 (0,64 ng/g) sprake van veranderingen in de in vitro gestimuleerde lymfocytoproliferatie ten opzichte van de controlegroep. Daarnaast vond er na immunisatie van de kuikens een lagere totale IgG respons plaats. Ook bij mengsels van chloorkoolwaterstoffen (0,0625-0,25 ng/g) werden veranderingen in de immuunrespons waargenomen (Lavoie et al., 2007; Lavoie & Grasman, 2007).

Uit het onderzoek van Lyche et al. blijkt dat blootstelling aan PCB's niet alleen toxische effecten kan veroorzaken op het immuunsysteem via AhR afhankelijke mechanismen, zoals bij blootstelling aan PCB 126 (49 ng/kg-d) het geval is. Er spelen ook nog andere mechanismen een rol omdat er bij blootstelling aan doses PCB 153 (98µg/kg-d), dat niet werkzaam is via de AhR, ook effecten op het immuunsysteem werden waargenomen (Lyche et al., 2004; Lyche et al., 2006). Studies naar de effecten van in vitro blootstelling aan individuele PCB's en mengsels van chloorkoolwaterstoffen (5 ppm en 0,05 ppb) lieten bij zowel muizen als zeezoogdieren effecten op de immuunrespons zien (Mori et al., 2006; Mori et al., 2008).

De verschillen in gemeten effecten kunnen wellicht worden verklaard door soortspecifieke gevoeligheid voor blootstelling aan PCB's, en verschillen tussen in vitro en in vivo studies, hoewel bij beiden effecten op de immuunrespons worden waargenomen (Mori et al., 2006; Mori et al., 2008). Het is dus duidelijk dat blootstelling aan PCB's veranderingen in het functioneren van het immuunsysteem kan veroorzaken bij zowel proefdieren als in het wild levende soorten.

Hoofdstuk 3 Immunotoxiciteit bij kinderen

Uit de proefdier- en ecotoxicologische studies die in hoofdstuk 2 zijn behandeld, blijkt dat PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen uiteenlopende effecten kunnen hebben op het immuunsysteem. Er werd verstoring van zowel de cellulaire als de humorale immunorespons waargenomen. Als blootstelling aan milieucontaminanten tijdens de embryonale ontwikkeling en vlak na de geboorte plaatsvindt, kan dit consequenties hebben voor het latere functioneren van het immuunsysteem (Van Loveren & Piersma, 2004). Volgens de WHO wordt ruim een derde van ziektes bij kinderen onder de 5 jaar veroorzaakt door schadelijke factoren in de omgeving, zoals pesticiden, verontreinigd drinkwater en luchtverontreiniging. Een groeiend aantal kinderziekten wordt in verband gebracht met prenatale en postnatale blootstelling aan verontreinigende stoffen in de omgeving. Omdat de immunorespons noodzakelijk is bij het voorkomen van infecties, is het belangrijk om te kijken naar de effecten van toxische stoffen op de ontwikkeling van het immuunsysteem (Duramad et al., 2007).

In een aantal studies waarin de effecten van blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen bij volwassenen werden onderzocht, was onder andere sprake van een lagere concentratie IgM en IgA en een hoger risico op infecties van de luchtwegen. Verder werd in populaties met een hoge consumptie van door PCB vervuilde vis een toename in het aantal B cellen en een afname in CD8+ en Natural Killer cellen waargenomen. Deze effecten werden gevonden bij volwassenen (Hertz-Picciotto et al., 2008). Het is mogelijk dat de gevolgen van blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen wellicht nog groter zijn bij pasgeboren kinderen, omdat het immuunsysteem dan nog in ontwikkeling is. Er wordt aangenomen dat het immuunsysteem in ontwikkeling veel gevoeliger is voor blootstelling aan toxische stoffen dan het immuunsysteem van een volwassene. Mogelijk treden er sneller immunotoxische effecten op bij een lagere blootstelling tijdens de embryonale ontwikkeling en vlak na de geboorte (Dietert, 2009). Daarom zullen in dit hoofdstuk de effecten van blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen op het immuunsysteem bij baby's en jonge kinderen worden behandeld.

3.1 Chloorkoolwaterstoffen en de kans op infecties

Om te achterhalen in welke mate PCB's en *p,p'*-DDE's de afweer van kleine kinderen beïnvloeden, hebben Glynn et al. gekeken naar het verband tussen blootstelling aan deze stoffen en het risico op luchtweginfecties bij baby's van drie maanden oud. Prenatale blootstelling werd gedefinieerd aan de hand van de concentratie chloorkoolwaterstoffen in het serum van de moeder tijdens de zwangerschap. De postnatale blootstelling werd vastgesteld door de concentraties te meten in de moedermelk en dit te vermenigvuldigen met het aantal dagen dat de moeder borstvoeding had gegeven. De gevonden resultaten zijn in tabel 3 samengevat, evenals een aantal andere observatiestudies naar de effecten van chloorkoolwaterstoffen op het immuunsysteem in kinderen. Uit de resultaten van Glynn et al. blijkt de kans op het ontwikkelen van een luchtweginfectie, net als bij volwassenen, groter bij blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen. Het aantal infecties werd vastgesteld door de moeders elke week, gedurende een periode van 3 maanden, een vragenlijst in te laten vullen over eventuele ziekteverschijnselen bij hun kind.

Tabel 3. Effecten van perinatale blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen op het immuunsysteem bij kinderen

Toxische stof	Subject	Concentratie prenataal	Concentratie moedermelk en postnatale blootstelling	Effecten	Referentie
PCB 28, 52 en 101 di-ortho PCB's mono-ortho PCB's PCB 153 p,p'-DDE (Zweden)	Pasgeborenen (0 tot 3 mnd)	3-427 ng/g lipid 44-362 ng/g lipid 1-20 ng/g lipid 23-179 ng/g lipid 21-622 ng/g lipid in matернаal serum	0 - 155 ng/g versgewicht*dag 0 - 1666 ng/g versgewicht*dag 0 - 54 ng/g versgewicht*dag 0 - 853 ng/g versgewicht*dag 0 - 2199 ng/g versgewicht*dag	↑risico op luchtweginfecties Bij prenatale blootstelling PCB 28, 52 en 101 ↓risico luchtweginfecties perinatale blootstelling mono- en di-ortho PCB's, en p,p'-DDE ↑aantal lymfocyten en monocyt bij PCB 28, 52 en 101 (hoogste blootst.) ↓percentage eosinofielen bij p,p'-DDE – verband percentage lymfocyt subtypes tussen p,p'-DDE en PCB's na correctie	Glynn <i>et al.</i> , 2008
PCB's Dioxines (som PCDD's, PCDF's en Co-PCB's) (Japan)	Baby's 10 mnd (n=101)	nvt	20 - 545 ng/g lipid 3,4 - 49 pgTEQ/g lipid	↓% CD16+ T cellen bij PCB's + dioxines ↑ ratio CD4+ T cellen in verhouding CD8+ bij hogere blootstelling dioxines ↑ % CD3+ T cellen bij dioxines	Nagayama <i>et al.</i> , 2006
Dioxines, PCB's en PBDE's (Nederland)	Jongeren 14-18 jaar (n=33)	gem. 32,6 ng/g lipid PCDD/F maternaal serum	gem. 66,9 ng PCDD/F serum adolescent: 2,2 pg/g lipid dioxine-achtige PCB's en PCDD/F	↓aantal granulocyten bij dioxine-achtige PCB's ↓% lymfocyten bij PBDE's – totale aant. leukocyten, thrombocyten, hemoglobine en thrombopoietine	Leijs <i>et al.</i> , 2009
PCB en PCDD/F (Nederland)	Kleuters 42 mnd oud (n=207)	0.59-4.76 µg/L in matернаal serum 0,08 - 1,98 µg/L in serum navelstreng	5.9 - 45.7 Planar PCB TEQ 6,4-25,45 Mono-ortho PCB TEQ 15,6 - 66,6 Dioxine TEQ (pg/g melkvet) 0,08 - 2,12 µg/L in bloed kind 42 maanden oud	↑kans op middenoorontsteking en virus-ziekten zoals waterpokken ↓allergische reactie eten, pollen, stof huisdieren ↑CD8+ en TcR αβ3+ T-cellen, alleen pre-natale blootstelling, 42 maanden ↑CD4+CD45RO+ (geheugen) and CD3+HLA-DR+ (geactiveerde) T-cellen ↓antilichamen tegen bof en rode hond na primo vaccinatie	Weisglas-Kuperus <i>et al.</i> , 2000

Toxische stof	Subject	Concentratie	Concentratie moedermelk	Effecten	Referentie
PCB's, HCB, DDE Dieldrin en Mirex (Canada)	Pasgeborenen borst- of flessenvoeding (n=98 en n=73)	nvt	530-727 µg/kg melkvet PCB	↑risico middenoorontsteking 1e levens- jaar ↓concentratie WBC en lymfocyten 3 mnd ↓concentratie IgA 7 en 12 mnd ↓CD4/CD8 ratio (niet sign.)	Dewailly <i>et al.</i> , 2000
Dioxine	kinderen 8 jr (n=27)	8,74 - 46,62 ng/kg vet (in moedermelk)	4,34 - 123,72 ng (concentratie vermenigvuldigt met tot. hoef. melk die kinderen binnenkregen)	↑aantal CD4+ cellen ↑aantal CD45RA+ cellen ↓allergische reacties	ten Tusscher <i>et al.</i> , 2003
PCB's	18 mnd (n=129) 7,5 jr (n=119)	1,28 µg/g lipid 1,22 µg/g lipid serum moeder wk. 34	1,6 µg/g lipid 1,35 µg/g lipid	↓concentratie antilichamen tegen difterie 18 mnd ↓concentratie antilichamen tegen tetanus 7,5 jaar	Heilmann <i>et al.</i> , 2006
PCB's	5 en 7 jr	1,25 µg/g lipid serum moeder wk. 32	1,34 µg/g lipid (4-5 dagen na bevalling) 1,14 µg/g serum kind 5 jr. 0,75 µg/g lipid serum kind 7 jr.	↓concentratie antilichamen tegen difterie 5 jaar pre-booster en 7 jaar ↓concentratie antilichamen tegen tetanus 7 jaar	Heilmann <i>et al.</i> , 2010

Door Glynn et al. werd bij hoge prenatale blootstelling aan PCB 28+52+101 een significante toename van het risico op luchtweginfecties bij baby's waargenomen. Dat wil zeggen dat moeders, waarbij voor de bevalling hoge concentraties PCB en *p,p'*-DDE in het bloed werden vastgesteld, vaker een infectie bij hun kind opgaven dan moeders van kinderen die lagere concentraties in hun bloed hadden. Het is dus aannemelijk dat prenatale blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen nadelige effecten op de gezondheid van het kind kan veroorzaken. Luchtweginfecties kunnen de kans op de ontwikkeling van astma of middenoorontstekingen (otitis media) vergroten (Glynn et al., 2008). Naast een verhoogde kans op luchtweginfecties, werden er bij baby's met de hoogste PCB concentraties significant hogere aantallen witte bloedcellen, lymfocyten en monocytën gevonden wanneer deze werden vergeleken met kinderen die aan lagere concentraties chloorkoolwaterstoffen waren blootgesteld (Glynn et al., 2008).

Ook uit andere studies blijkt een toegenomen risico op infecties bij blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen. Dewailly et al. vergeleken bij de Inuit de blootstelling aan onder andere PCB's en *p,p'*-DDE, tussen baby's die borstvoeding kregen en baby's die met de fles werden gevoed. Bij jonge Inuit kinderen komen in het algemeen veel infectieziekten voor, en daarom is gekeken of er een verband is met de blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen. De blootstelling werd bepaald aan de hand van de concentratie chloorkoolwaterstof in moedermelk. In het eerste levensjaar nam het relatieve risico op ten minste een keer middenoorontsteking bij kinderen die met de borst werden gevoed toe met 1.28 naar mate de blootstelling aan PCB's (138+153+180), *p,p'*-DDE en HCB hoger was. Normaal gesproken beschermt een langere periode van borstvoeding het kind juist tegen het oplopen van een middenoorontsteking. De aandoening komt namelijk minder voor bij kinderen die met de borst zijn gevoed vergeleken met kinderen die flessenvoeding hebben gekregen. Deze bescherming zou verklaard kunnen worden door de overdracht van maternale antilichamen tijdens de eerste maanden dat de baby borstvoeding krijgt wat de baby beter tegen infecties beschermt (Dewailly et al., 2000).

Blootstelling aan PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen kan de positieve effecten van borstvoeding echter tegengaan, waardoor de kans op infecties zoals middenoorontsteking toch groter wordt. In dat geval is er vrijwel geen verschil waarneembaar tussen baby's die borstvoeding kregen en baby's die met de fles werden gevoed, zoals uit de studie van Dewailly et al. blijkt. Soortgelijke resultaten met betrekking tot het risico op middenoorontsteking werden ook gevonden in Nederlandse kinderen waarbij blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen via de borstvoeding had plaatsgevonden (Dewailly et al., 2000; Weisglas-Kuperus et al., 2000). Daarnaast hadden deze kinderen ook een hogere kans op een virusinfectie zoals de waterpokken (Weisglas-Kuperus et al., 2000).

Hoewel er bij alleen prenatale blootstelling aan mono- en di-*ortho* PCB's in de studie van Glynn et al. een toename in het risico op luchtweginfecties werd waargenomen, werd perinatale blootstelling aan deze PCB's geassocieerd met een afname van het risico op infecties aan de luchtwegen (Glynn et al., 2008). Bij de studies in Inuit en Nederlandse kinderen was er wel sprake van een toename in het risico op infecties bij perinatale blootstelling. De wisselende resultaten zouden verklaard kunnen worden door de concentratieverschillen tussen de studies. De gemiddelde pre- en postnatale blootstelling was namelijk hoger in de Inuit en de Nederlandse kinderen vergeleken met de gemiddelde

concentraties waaraan de kinderen in het onderzoek van Glynn et al. werden blootgesteld (Dewailly et al., 2000; Glynn et al., 2008; Weisglas-Kuperus et al., 2000). Wellicht hebben lagere concentraties in dit geval juist een positief effect op het immuunsysteem, en vindt er bij blootstelling aan hogere concentraties een tegenovergesteld effect plaats (Glynn et al., 2008). Vergelijkbare resultaten zijn gevonden in kippen die aan een mengsel van chloorkoolwaterstoffen werden blootgesteld, zoals in hoofdstuk 2 is besproken (Lavoie et al., 2007).

3.2 Effecten op de cellulaire afweer

Experimentele studies naar de immunotoxische effecten van chloorkoolwaterstoffen in proefdieren lieten verschillende veranderingen in de cellulaire immunorespons zien, waaronder afwijkingen in de mitogeen geïnduceerde lymfocytproliferatie. Zoals uit tabel 3 blijkt worden er bij kinderen ook effecten op de cellulaire afweer waargenomen. Daarbij wordt er gekeken naar verschillende immunologische parameters. Glynn et al. vonden drie maanden na de geboorte een toename in het aantal witte bloedcellen, lymfocyten en monocytten in baby's die prenataal waren blootgesteld aan concentraties van meer dan 5,8 µg/g lipid PCB 28+52+101. Daarnaast was er sprake van een negatieve correlatie tussen prenatale blootstelling aan mono- en di-*ortho* PCB's, en het percentage cytotoxische T-cellen (CD8+) van het totaal aantal lymfocyten, hoewel er na correctie voor potentiële verstoringe variabelen geen significante effecten van prenatale PCB blootstelling op lymfocyt subsets werden gevonden (Glynn et al., 2008). In een studie naar de effecten van perinatale blootstelling aan dioxines, PCB's en pesticiden waarin chloorkoolwaterstoffen zijn verwerkt, werd bij Japanse baby's van 10 maanden oud juist een toename in het percentage cytotoxische T-cellen en T-lymfocyten (CD3+) waargenomen. Daarnaast was er sprake van een toename van de ratio CD4+/CD8+ T cellen. Deze toenames waren alleen significant bij blootstelling aan dioxines, chlooraan en HCE, maar omdat de chemische eigenschappen van deze stoffen vergelijkbaar zijn met die van PCB's zou het kunnen dat er bij blootstelling aan PCB's soortgelijke effecten optreden hoewel daar in deze studie geen significante resultaten voor werden gevonden (Nagayama et al., 2007). Blootstelling aan PCB's leidde bij Nederlandse kinderen namelijk wel tot een toename in het aantal lymfocyten en cytotoxische T-cellen. Ook het aantal geheugencellen en het aantal geactiveerde T-cellen was hoger (Weisglas-Kuperus et al., 2000). In de studie naar de effecten bij Inuit kinderen werd geen verband gevonden tussen blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen en de genoemde immunologische parameters (Dewailly et al., 2000).

Als de veranderingen die in de lymfocyt subtypes zijn opgetreden niet verdwijnen, dan kan dat op latere leeftijden gevolgen hebben voor het functioneren van het immuunsysteem. De differentiatie van T-cellen is belangrijk bij het reageren op de aanwezigheid van specifieke antigenen (Van Loveren et al., 2001). Er kunnen verschillende aandoeningen ontstaan als de cellulaire afweer niet meer goed functioneert door bijvoorbeeld een afname in het aantal T-cellen. Voorbeelden daarvan zijn allergieën of auto-immuunziekten (Nagayama et al., 2007). Daarom worden er in veel gevallen follow-up studies gedaan, zodat er ook kan worden onderzocht of er op latere leeftijd nog effecten op het immuunsysteem gevonden kunnen worden.

Tabel 3 toont ook een follow up studie waarbij de effecten van PCB's, dioxines en PBDE's in Nederlandse kinderen werden onderzocht. Ten Tusscher et al. deden onderzoek naar het verband tussen perinatale blootstelling aan dioxines bij 8-jarigen, en Leijs et al. onderzochten dezelfde kinderen op een leeftijd van 14-19 jaar, en keken daarbij ook naar de aanwezigheid van PCB's en PBDE's. Kinderen waarbij sprake was van prenatale blootstelling aan dioxines hadden 11 weken na de geboorte een lager aantal granulocyten, hoewel daar 30 maanden na de eerste studie niets meer van was te zien. Bij de 8-jarigen was het aantal T-helper cellen (CD4+) hoger en het aantal CD45RA+ cellen bij een toename in de postnatale blootstelling aan dioxines (ten Tusscher et al., 2003). In de follow up studie van Leijs et al. werd echter geen verband gevonden tussen de lymfocytsubtypen en de prenatale of huidige dioxine concentraties. Wel werd er een lager aantal granulocyten waargenomen bij jongeren met hogere concentraties dioxineachtige PCB's (77, 126 en 169) in hun serum. Dat komt overeen met de gevonden effecten van dioxine blootstelling in de neonatale periode. Ten slotte hadden de jongeren een lagere concentratie lymfocyten in hun serum bij hoge concentraties PBDE. Volgens Leijs et al. is het zorgelijk dat er, naast de gevonden effecten bij blootstelling in de neonatale periode, ook effecten op het immuunsysteem worden gevonden bij de concentraties die in de jongeren zijn aangetoond. Het zou kunnen dat de neonatale blootstelling aan PCB's en PBDE's persistente effecten op het immuunsysteem heeft, hoewel het mogelijk is dat de grootte van het cohort de significantie van de data beïnvloedt en zo geen goede afspiegeling van de realiteit vormt (Leijs et al., 2009).

3.3 Effecten op de antilichaamrespons na vaccinatie

Uit de voorgaande paragrafen blijkt dat blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen kan leiden tot een verhoogd risico op het oplopen van infectieziekten. Daarbij werd in een aantal gevallen ook een lagere concentratie antilichamen gevonden. In experimentele studies kan de antilichaamrespons gemeten worden door rode bloedcellen van schapen te injecteren, wat onder andere bij de kuikens werd gedaan, zoals in Hoofdstuk 2 is besproken. Omdat het niet mogelijk is om deze methode bij mensen toe te passen, kunnen de resultaten van de vaccinaties die kinderen krijgen gebruikt worden, om de effecten op de immunorespons bij blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen te bepalen (Van Loveren et al., 2001).

In een aantal studies die in Hoofdstuk 2 werden besproken werd ook gebruik gemaakt van immunisatie om de immunorespons te meten. Bij kinderen kunnen de resultaten van vaccinaties met thymus afhankelijke antigenen gebruikt worden om de werkzaamheid van het immuunsysteem te onderzoeken (Heilmann et al., 2006). Tot nu toe zijn er echter weinig studies in mensen waarbij de vaccinatierespons wordt gebruikt om de immunotoxiciteit van blootstelling aan chloorkoolwaterstoffen te meten.

Bij prenatale blootstelling aan PCB's hadden Nederlandse kinderen van 2 maanden een lager aantal antilichamen tegen de bof en mazelen na de eerste vaccinatie (Weisglas-Kuperus et al., 2000).

Ook op de Faeröer eilanden is onderzoek gedaan naar PCB immunotoxiciteit door de immuunrespons te meten nadat de kinderen waren gevaccineerd. De gemiddelde blootstelling aan PCB's op de Faeröer eilanden is hoog vanwege het consumptiepatroon van de bevolking (Heilmann et al., 2006).

Tabel 3 toont de antilichaamrespons van de kinderen na vaccinatie met verzwakte tetanus en difterie toxines. Beide vaccins bevatten antigenen die afhankelijk zijn van T-helper cellen voor zowel de primaire als secundaire antilichaamrespons. Bij de kinderen die meededen aan het onderzoek werd de antilichaamrespons op twee momenten gemeten. De kinderen werden allemaal gevaccineerd toen ze 12 maanden oud waren. Op vijfjarige leeftijd kregen de kinderen een tweede vaccinatie. In een groep werd de antilichaamrespons tegen difterie en tetanus toxines 18 maanden na de geboorte gemeten, in de andere groep gebeurde dat op zevenjarige leeftijd (Heilmann et al., 2006).

De concentratie antilichamen tegen difterie toxine nam af bij 18 maanden. Voor elke verdubbeling van de concentratie PCB's die bij de 18 maanden oude kinderen in het serum werd gemeten, nam de concentratie antilichamen met meer dan twintig procent af. Op zevenjarige leeftijd werd er geen significant verband met de blootstelling aan PCB's gevonden. Bij de antilichaamrespons tegen tetanus toxine was dit wel het geval, daar werd een lagere concentratie antilichamen gevonden terwijl de antilichaamrespons nog niet significant verschilde toen de kinderen 18 maanden oud waren. Dit suggereert dat het handhaven van de antilichaamrespons op latere leeftijd onderhevig is aan de mate waarin de kinderen aan PCB's worden blootgesteld (Heilmann et al., 2006).

In een latere studie hebben Heilmann et al. weer gekeken naar de door vaccinatie geïnduceerde antilichaamrespons. Bij vijfjarigen werd de concentratie antilichamen voor en na een boostervaccinatie bepaald. Daarna werd de antilichaamrespons nog een keer gemeten op 7-jarige leeftijd. De gemeten effecten kwamen overeen met de resultaten uit de eerdere studie. Ook hier werd een lagere concentratie antilichamen gevonden. Voordat de boostervaccinatie werd toegediend was er een negatieve correlatie tussen de PCB concentraties in de moedermelk en het serum van de 18-maanden oude kinderen (een subgroep uit de studie die in 2006 werd gedaan), en de concentratie antidifterie antilichamen. Dat wil zeggen dat de lagere antilichaamrespons die werd waargenomen het meest overeenkwam met de PCB concentraties die in de moedermelk en het serum van de kinderen op een leeftijd van 18 maanden werden gemeten en dat er dus geen overeenkomsten waren tussen de huidige PCB waarden en de antilichaamrespons. Bij de 7-jarigen was er sprake van een afname in de concentratie antilichamen tegen zowel tetanus als difterie (Heilmann et al., 2010). De resultaten suggereren dat de gevoeligheid voor PCB blootstelling het hoogst is wanneer de kinderen 18 maanden oud zijn. Dan zijn de antilichaamconcentraties het laagst, dus wellicht gaat het hier om een kwetsbaar stadium in de ontwikkeling van het immuunsysteem (Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010).

3.4 Conclusie

In alle studies die in dit hoofdstuk zijn besproken werden bij blootstelling aan PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen veranderingen in het functioneren van het immuunsysteem van jonge kinderen waargenomen. Toch worden er ook nog op latere leeftijd effecten op de immuunrespons waargenomen, zoals uit de studies van Weisglas-Kuperus et al. en Heilmann et al. blijkt (Weisglas-Kuperus et al., 2000, Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010). Het is echter niet in alle gevallen duidelijk of de gemeten effecten in deze studies ook al op jongere leeftijd optraden. Er is wel een duidelijk verschil met de effecten die werden waargenomen in de experimentele studies (Glynn et al., 2008; Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010).

Het is moeilijk om te bepalen welke component het meest bijdraagt aan de veranderingen in de immuunrespons. Het is namelijk niet duidelijk of de effecten op het immuunsysteem voornamelijk bepaald worden door persistente PCB's, of door dioxineachtige PCB's, die op latere leeftijd niet meer detecteerbaar zijn in het bloed (Glynn et al., 2008; Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010). Het lijkt erop dat de optredende veranderingen bij hoge blootstelling het risico op luchtweginfecties en andere infecties kunnen verhogen, maar de resultaten van de verschillende studies zijn niet heel consistent (Weisglas-Kuperus et al., 2000; Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010). De verminderde vaccinatierespons bij blootstelling aan PCB's zou kunnen bijdragen aan een hogere gevoeligheid voor infecties (Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010). Hoewel de kleine veranderingen die in de functionaliteit van het immuunsysteem worden waargenomen individueel misschien geen grote gevolgen hebben, kunnen ze wel belangrijk worden er door andere factoren veranderingen in het immuunsysteem plaatsvinden. Dit zou bijvoorbeeld veroorzaakt kunnen worden door vroegtijdige geboorte, chronische ziekten of andere aandoeningen (Heilmann et al., 2006).

Hoofdstuk 4 Discussie en conclusie

In deze scriptie is onderzocht wat de effecten zijn van perinatale blootstelling aan PCB's op het functioneren van het immuunsysteem van jonge kinderen en op de immuunrespons na vaccinatie in het bijzonder. De belangrijkste route van blootstelling aan PCB's en andere chloorkoolwaterstoffen is via de voedselketen, waarbij de hoogste concentraties chloorkoolwaterstoffen werden teruggevonden in dierlijke producten met een hoog vetgehalte.

In vrijwel alle populaties was de gemiddelde dagelijkse inname van PCB's via het voedsel onder de aanvaardbare dagelijkse inname van 2 pg WHO-TEQ/kg lichaamsgewicht/dag (Baars et al., 2004; Darnerud et al., 2006; Fromberg et al., 2010; Storelli et al., 2003). Er zijn echter subpopulaties waarbij de blootstelling hoger is dan de gestelde norm. Deze hogere blootstelling kan verklaard worden door een ander voedingspatroon van deze subgroepen en is afhankelijk van de locatie van de subgroep (Storelli et al., 2003). Sommige populaties worden ook aan hogere concentraties PCB's blootgesteld omdat bepaalde gebieden sterker vervuild zijn dan anderen, waardoor er wellicht sneller of duidelijkere effecten optreden binnen deze groepen (Darnerud et al., 2006).

De effecten van blootstelling aan PCB's zijn allereerst onderzocht aan de hand van verschillende experimentele studies. Uit deze onderzoeken bleek dat PCB's op verschillende manieren kunnen leiden tot veranderingen in het functioneren van het immuunsysteem. Zo werd er in verschillende studies een afname gevonden in de lymfocytproliferatie. De waargenomen veranderingen in de lymfocytrespons waren echter in de meeste studies niet significant (Lavoie & Grasman, 2007; Lavoie et al., 2007; Lyche et al., 2004; Lyche et al., 2006; Mori et al., 2006; Mori et al., 2008). De effecten kwamen ook niet in alle studies overeen. Hoewel er bij sommige dieren sprake was van een afname in de lymfocytrespons werden er bij andere soorten juist toenames in de lymfocytproliferatie waargenomen (Mori et al., 2006; Mori et al., 2008). Wellicht is er in deze gevallen sprake van hormese (Lavoie et al., 2007).

Naast de effecten op de cellulaire afweer, zorgde blootstelling aan PCB's voor veranderingen in de humorale immuunrespons. In een aantal gevallen was sprake van onderdrukking van de antilichaamrespons. Ook dit kan gevolgen hebben voor het effectief bestrijden van infecties (Mori et al., 2008; Sagerup et al., 2009). Zo was er onder andere sprake van een afname van de overdracht van maternale antilichamen en een onderdrukking van de antilichaamrespons na immunisatie van de dieren tegen verschillende pathogenen (Lyche et al., 2006; Lavoie en Grasman, 2007). Daarnaast werden er effecten op de B-celproliferatie waargenomen. Net als bij de T-lymfocyten werden in de verschillende studies zowel toenames als afnames in de lymfocytrespons waargenomen. Een afname in de proliferatie van B cellen kan gevolgen hebben voor de differentiatie in plasmacellen en geheugencellen. Een toename in het aantal B cellen kan echter resulteren in anergie (Mori et al., 2008).

Zoals in Hoofdstuk 2 is besproken kunnen de verschillen tussen de studies door een aantal factoren verklaard worden. Allereerst verschillen de waargenomen effecten bij blootstelling aan individuele PCB's en blootstelling aan een mengsel van PCB's. Zo kunnen er verschillen zijn in de chemische interacties van de gebruikte chloorkoolwaterstoffen of in de compositie van de toxische stoffen. Ook soortspecifieke eigenschappen kunnen een rol spelen bij de waargenomen verschillen in de effecten op het functioneren van het immuunsysteem. Ten slotte is het mogelijk dat de verschillen veroorzaakt worden door de gebruikte onderzoeksmethoden. De studies van Mori et al. zijn in vitro gedaan, terwijl alle andere proefdierstudies in vivo zijn uitgevoerd, waarbij rekening gehouden moet worden met de mogelijke invloed van metabolische activiteit in de proefdieren (Lyche et al., 2004; Lyche et al., 2006).

De effecten van blootstelling aan PCB's op het functioneren van het immuunsysteem van kinderen waren veel minder duidelijk, maar impliceren wel dat mate van blootstelling in sommige populaties zorgt voor veranderingen in het functioneren van het immuunsysteem, en aangenomen wordt dat voornamelijk jonge kinderen heel gevoelig zijn voor de effecten die door blootstelling optreden (Dewailly et al., 2000; Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010; Weisglas-Kuperus et al., 2000). In de meeste gevallen is het echter nog maar de vraag in hoeverre de veranderingen in de immunrespons schadelijk zijn voor het functioneren van het immuunsysteem.

Uit de observatiestudies blijkt dat blootstelling in bepaalde subpopulaties wordt geassocieerd met een hogere kans op luchtweginfecties. Ook is het mogelijk dat de kans op virusinfecties zoals de waterpokken iets hoger is in vergelijking met kinderen die niet aan hoge concentraties PCB's zijn blootgesteld (Dewailly et al., 2000; Weisglas-Kuperus et al., 2000). Maar in sommige gevallen werd er juist een afname in het risico op infecties waargenomen, zoals bij perinatale blootstelling aan mono- en di-ortho PCB's in de studie van Glynn et al. het geval was (Glynn et al., 2008). Deze verschillen kunnen worden veroorzaakt door de duur van de blootstelling (alleen tijdens de zwangerschap of ook postnatale blootstelling via de moedermelk) en door verschillen in de concentraties waar de kinderen tijdens en na de zwangerschap aan blootgesteld zijn (Weisglas-Kuperus et al., 2000).

De waargenomen effecten op de cellulaire afweer bij jonge kinderen waren wisselend en in veel gevallen werd er geen significant verband gevonden met de blootstelling aan PCB's (Nagayama et al., 2007; Dewailly et al., 2000). Alleen in de studie van Weisglas-Kuperus et al. werd een toename in het aantal lymfocyten en cytotoxische T-cellen waargenomen (Weisglas-Kuperus et al., 2000). Daarnaast vonden Leijs et al. in een follow up studie een lager aantal granulocyten bij jongeren met hogere concentraties dioxineachtige PCB's (77, 126 en 169) in hun serum (Leijs et al., 2009).

In de observatiestudies op de Faeröer eilanden werden effecten op de vaccinatierespons waargenomen. De antilichaamrespons tegen tetanus, difterie, bof, en mazelen was lager bij hogere blootstelling aan PCB's, en de gevoeligheid voor blootstelling was het hoogst op een leeftijd van 18 maanden. De waargenomen afname in de antilichaamrespons na vaccinatie van de kinderen zou het risico op infectie kunnen vergroten (Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010).

Bij de resultaten van de experimentele studies en observatiestudies zijn een aantal kanttekeningen te plaatsen, omdat de verschillen tussen experimentele en observatiestudies groot zijn. In een experiment is het namelijk mogelijk om de condities te manipuleren, en een vergelijking te maken tussen verschillende groepen op basis van een verschil in slechts één variabele. Bij observatiestudies is het vrijwel onmogelijk om twee populaties te vinden die alleen verschillen in de mate van blootstelling, en waarbij alle andere variabelen hetzelfde zijn. Er zijn teveel factoren die effect kunnen hebben op het uiteindelijke resultaat. Daarnaast zijn de gebruikte concentraties in de proefdierstudies over het algemeen veel hoger dan de concentraties waaraan mensen worden blootgesteld.

Verder zijn er andere factoren die een rol kunnen spelen. Vaak waren de groepen die in de observatiestudies onderzocht werden klein, en dat geeft geen representatief beeld van de werkelijkheid (Weisglas-Kuperus et al., 2000).. Het zou kunnen dat de grootte van de groepen dus in grote mate de significantie van de resultaten heeft bepaald.

Ook is het aantal observatiestudies naar de effecten van blootstelling aan PCB's op het functioneren van het immuunsysteem gering, waardoor niet duidelijk is of dezelfde resultaten ook in andere populaties worden waargenomen. Ten slotte werden sommige studies gedaan op plaatsen waar de blootstelling aan PCB's relatief hoog is, zoals de Faeröer eilanden waar baby's aan hoge concentraties chloorkoolwaterstoffen worden blootgesteld via het dagelijks voedsel van de moeder (Heilmann et al., 2006; Heilmann et al., 2010). De gevonden resultaten zijn dan niet representatief voor andere populaties en dus niet extrapoleerbaar naar de rest van de wereld.

De effecten van perinatale blootstelling aan PCB's in doorsnee populaties zijn vermoedelijk dus niet heel groot. De effecten die in de observatiestudies werden waargenomen waren in de meeste gevallen het gevolg van relatief hoge blootstelling aan PCB's en komen alleen voor binnen kleine subpopulaties. Binnen deze subgroepen kan blootstelling aan PCB's leiden tot een afname in de lymfocytproliferatie en onderdrukking van de antilichaamrespons na vaccinatie. Blootstelling aan PCB's zou in deze gevallen een risico kunnen vormen als het functioneren van het immuunsysteem ook wordt aangetast door andere factoren, zoals vroegtijdige geboorte, chronische ziekten of andere aandoeningen. Omdat er nog maar weinig observatiestudies zijn verschenen naar de mogelijke effecten van perinatale blootstelling aan PCB's is het echter moeilijk om het risico voor deze subpopulaties in te schatten.

Referenties

- Arena, S. M., Greeley, E. H., Halbrook, R. S., Hansen, L. G., & Segre, M. (2003). Biological effects of gestational and lactational PCB exposure in neonatal and juvenile C57BL/6 mice. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44(2), 272-280.
- Baars, A. J., Bakker, M. I., Baumann, R. A., Boon, P. E., Freijer, J. I., Hoogenboom, L. A. P., de Vries, J. (2004). Dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in foodstuffs: Occurrence and dietary intake in the netherlands. *Toxicology Letters*, 151(1), 51-61. doi:10.1016/j.toxlet.2004.01.028
- Covaci, A., Jorens, P., Jacquemyn, Y., & Schepens, R. (2002). Distribution of PCBs and organochlorine pesticides in umbilical cord and maternal serum. *Science of the Total Environment*, 298(1-3), 45-53.
- Darnerud, P. O., Atuma, S., Aune, M., Bjerselius, R., Glynn, A., Grawe, K. P., & Becker, W. (2006). Dietary intake estimations of organohalogen contaminants (dioxins, PCB, PBDE and chlorinated pesticides, e.g. DDT) based on swedish market basket data. *Food and Chemical Toxicology*, 44(9), 1597-1606. doi:10.1016/j.fct.2006.03.011
- Denison, M.S., Nagy, S.R. (2003). Activation of the aryl hydrocarbon receptor by structurally diverse exogenous and endogenous chemicals. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 423, 309-334.
- Dewailly, E., Ayotte, P., Bruneau, S., Gingras, S., Belles-Isles, M., & Roy, R. (2000). Susceptibility to infections and immune status in inuit infants exposed to organochlorines. *Environmental Health Perspectives*, 108(3), 205-211.
- Dietert, R. R. (2009). Developmental immunotoxicology: Focus on health risks. *Chemical Research in Toxicology*, 22(1), 17-23. doi:10.1021/tx800198m ER
- Duramad, P., Tager, I. B., & Holland, N. T. (2007). Cytokines and other immunological biomarkers in children's environmental health studies. *Toxicology Letters*, 172 (1-2), 48-59.
- Fromberg, A., Granby, K., Højgård, A., Fagt, S., & Larsen, J. C. (2010). Estimation of dietary intake of PCB and organochlorine pesticides for children and adults. *Food Chemistry*,
- Glynn, A., Thuvander, A., Aune, M., Johannisson, A., Darnerud, P. O., Ronquist, G., & Cnattingius, S. (2008). Immune cell counts and risks of respiratory infections among infants exposed pre- and postnatally to organochlorine compounds: A prospective study. *Environmental Health*, 7, 62. doi:10.1186/1476-069X-7-62
- Grasman, K. A. (2002). Assessing immunological function in toxicological studies of avian wildlife. *Integrative and Comparative Biology*, 42(1), 34-42.
- Haussmann, M. F., Winkler, D. W., Huntington, C. E., Vleck, D., Sanneman, C. E., Hanley, D., & Vleck, C. M. (2005). Cell-mediated immunosenescence in birds. *Oecologia*, 145(2), 270-275. doi:10.1007/s00442-005-0123-3

- Heilmann, C., Budtz-Jørgensen, E., Nielsen, F., Heinzow, B., Weihe, P., & Grandjean, P. (2010). Serum concentrations of antibodies against vaccine toxoids in children exposed perinatally to immunotoxicants. *Environmental Health Perspectives*, *118*(10), 1434-1438.
- Heilmann, C., Grandjean, P., Weihe, P., Nielsen, F., Budtz-Jørgensen, E., & Lanphear, B. (2006). Reduced antibody responses to vaccinations in children exposed to polychlorinated biphenyls. *PLoS Medicine*, *3*(8)
- Hertz-Picciotto, I., Park, H. Y., Dostal, M., Kocan, A., Trnovec, T., & Sram, R. (2008). Prenatal exposures to persistent and non-persistent organic compounds and effects on immune system development. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, *102*(2), 146-154. doi:10.1111/j.1742-7843.2007.00190.x ER
- Huisman, M., Eerenstein, S. E. J., Koopman-Esseboom, C., Brouwer, M., Fidler, V., Muskiet, F. A. J., Boersma, E. R. (1995). Perinatal exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins through dietary intake. *Chemosphere*, *31*(10), 4273-4287. doi:DOI: 10.1016/0045-6535(95)00296-K
- Imanishi, J., Nomura, H., Matsubara, M., Kita, M., Won, S. J., Mizutani, T., & Kishida, T. (1980). Effect of polychlorinated biphenyl on viral-infections in mice. *Infection and Immunity*, *29*(1), 275-277.
- Iwanowicz, L. R., Blazer, V. S., McCormick, S. D., VanVeld, P. A., & Ottinger, C. A. (2009). Aroclor 1248 exposure leads to immunomodulation, decreased disease resistance and endocrine disruption in the brown bullhead, *ameiurus nebulosus*. *Aquatic Toxicology*, *93*(1), 70-82. doi:DOI: 10.1016/j.aquatox.2009.03.008
- Jackson, L. W., Lynch, C. D., Kostyniak, P. J., McGuinness, B. M., & Louis, G. M. B. (2010). Prenatal and postnatal exposure to polychlorinated biphenyls and child size at 24 months of age. *Reproductive Toxicology*, *29*(1), 25-31. doi:DOI: 10.1016/j.reprotox.2009.09.008
- Lavoie, E. T., & Grasman, K. A. (2007). Effects of in ovo exposure to PCBs 126 and 77 on mortality, deformities and post-hatch immune function in chickens. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, *70*(6), 547-558.
- Lavoie, E. T., Wiley, F., Grasman, K. A., Tillitt, D. E., Sikarskie, J. G., & Bowerman, W. W. (2007). Effect of in ovo exposure to an organochlorine mixture extracted from double crested cormorant eggs (*phalacrocorax auritus*) and PCB 126 on immune function of juvenile chickens. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *53*(4), 655-661.
- Leijds, M. M., Koppe, J. G., Olie, K., Van Aalderen, W. M. C., De Voogt, P., & Ten Tusscher, G. W. (2009). Effects of dioxins, PCBs, and PBDEs on immunology and hematology in adolescents. *Environmental Science and Technology*, *43*(20), 7946-7951.
- Lyche, J., Larsen, H., Skaare, J. U., Tverdal, A., Dahl, E., Johansen, G., & Ropstad, E. (2004). Effects of perinatal exposure to low doses of PCB 153 and PCB 126 on lymphocyte proliferation and hematology in goat kids. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, *67*(11), 889-904. doi:10.1080/15287390490443740

- Lyche, J., Larsen, H., Utne Skaare, J., Tverdal, A., Johansen, G., & Ropstad, E. (2006). Perinatal exposure to low doses of PCB 153 and PCB 126 affects maternal and neonatal immunity in goat kids. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*, 69(1-2), 139-158.
- Mori, C., Morsey, B., Levin, M., Nambiar, P. R., & De Guise, S. (2006). Immunomodulatory effects of in vitro exposure to organochlorines on T-cell proliferation in marine mammals and mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A-Current Issues*, 69(4), 283-302. doi:10.1080/15287390500227472
- Mori, C., Morsey, B., Levin, M., Gorton, T. S., & De Guise, S. (2008). Effects of organochlorines, individually and in mixtures, on B-cell proliferation in marine mammals and mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A-Current Issues*, 71(4), 266-275. doi:10.1080/15287390701612860
- Nagayama, J., Tsuji, H., Iida, T., Nakagawa, R., Matsueda, T., Hirakawa, H., Watanabe, T. (2007). Immunologic effects of perinatal exposure to dioxins, PCBs and organochlorine pesticides in Japanese infants. *Chemosphere*, 67(9), S393-S398.
- Quintana, F.J., Basso, A.S., Iglesias, A.H., Korn, T. Farez, M.F., Betelli, E., Caccamo, M., Oukka, M., Weiner, H.L. (2008). Control of T(reg) and T(H)17 cell differentiation by the aryl hydrocarbon receptor. *Nature*, 453 (7191): 65-71.
- Safe, S. H. (1994). Polychlorinated-biphenyls (pcbs) - environmental-impact, biochemical and toxic responses, and implications for risk assessment. *Critical Reviews in Toxicology*, 24(2), 87-149.
- Sagerup, K., Larsen, H. J. S., Skaare, J. U., Johansen, G. M., & Gabrielsen, G. W. (2009). The toxic effects of multiple persistent organic pollutant exposures on the post-hatch immunity maturation of glaucous gulls. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A-Current Issues*, 72(14), 870-883. doi:10.1080/15287390902959516
- Snoeijs, T., Eens, M., Van den Steen, E., & Pinxten, R. (2007). Kinetics of primary antibody responses to sheep red blood cells in birds: A literature review and new data from great tits and European starlings. *Animal Biology*, 57(1), 79-95.
- Storelli, M. M., Giacomini-Stuffler, R., Storelli, A., & Marcotrigiano, G. O. (2003). Polychlorinated biphenyls in seafood: Contamination levels and human dietary exposure. *Food Chemistry*, 82(3), 491-496. doi:DOI: 10.1016/S0308-8146(03)00119-5
- ten Tusscher, G. W., Steerenberg, P. A., van Loveren, H., Vos, J. G., Von dem Borne, A. E. G. K., Westra, M., . . . Koppe, J. G. (2003). Persistent hematologic and immunologic disturbances in 8-year-old Dutch children associated with perinatal dioxin exposure. *Environmental Health Perspectives*, 111(12), 1519-1523. doi:10.1289/ehp.5715 ER
- Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A. T. C., Brunstrom, B., Cook, P., Feeley, M., . . . Zacharewski, T. (1998). Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environmental Health Perspectives*, 106(12), 775-792.

- Van Loveren, H., & Piersma, A. (2004). Immunotoxicological consequences of perinatal chemical exposures. *Toxicology Letters*, 149(1-3), 141-145. doi:10.1016/j.toxlet.2003.12.028
- Van Loveren, H., Van Amsterdam, J. G. C., Vandebriel, R. J., Kimman, T. G., Rümke, H. C., Steerenberg, P. S., & Vos, J. G. (2001). Vaccine-induced antibody responses as parameters of the influence of endogenous and environmental factors. *Environmental Health Perspectives*, 109(8), 757-764.
- Weisglas-Kuperus, N., Patandin, S., Berbers, G. A. M., Sas, T. C. J., Mulder, P. G. H., Sauer, P. J. J., & Hooijkaas, H. (2000). Immunologic effects of background exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins in dutch preschool children. *Environmental Health Perspectives*, 108(12), 1203-1207.
- Yilmaz, B., Sandal, S., Chen, C. -, & Carpenter, D. O. (2006). Effects of PCB 52 and PCB 77 on cell viability, [Ca²⁺] i levels and membrane fluidity in mouse thymocytes. *Toxicology*, 217(2-3), 184-193.