

Raskaudenaikainen altistuminen aflatoksiini B1:lle, alkoholille ja tupakalle: kokeellisista epidemiologisiin tutkimuksiin

Taija Voutilainen

FaT, erityisasiantuntija

Päihitteet ja tupakka -tiimi, Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL)

Tutkimuksen suorittamisaikainen toimipaikka:

Farmasian laitos, toksikologian ryhmä

Itä-Suomen yliopisto

taija.voutilainen@thl.fi

Taija Voutilaisen lääketutkimuksen tohtorihjelmaan kuulunut väitöskirja Gestational exposure to aflatoxin B1, alcohol, and tobacco: From in vitro investigations to epidemiological studies tarkastettiin Itä-Suomen yliopistossa terveystieteiden tiedekunnassa 8.12.2023. Vastaväittäjänä toimi professori, naistentautien ja synnytysten erikoislääkäri Terhi Pilttonen (Oulun yliopisto, Oulun yliopistollinen sairaala) ja kustoksena professori Jaana Rysä (Itä-Suomen yliopisto). Väitöskirja on julkaistu sähköisesti Itä-Suomen yliopiston kokeelmissa: <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-61-5011-6>.

Väitöskirja perustuu osajulkaisuihin:

I Storvik M, Huuskonen P*, Kyllönen T, Lehtonen S, El-Nezami H, Auriola S. Aflatoxin B1 – a potential endocrine disruptor – up-regulates CYP19A1 in JEG-3 cells. Toxicol Lett 2011;202:161–7. Saatavissa: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.01.028>*

II Voutilainen T, Rysä J, Keski-Nisula L, Kärkkäinen O. Self-reported alcohol consumption of pregnant women and their partners correlates both before and during pregnancy: a cohort study with 21 472 singleton pregnancies. Alcohol Clin Exp Res 2022;46(5):797–808. Saatavissa: <https://doi.org/10.1111/acer.14806>

III Voutilainen T, Keski-Nisula L, Rysä J, Kärkkäinen O. Parental cigarette smoking before and during pregnancy in a cohort of 21 472 pregnancies. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2024;134(4):543–55. Saatavissa: <http://doi.org/10.1111/bcpt.13987>

Voutilainen T. Raskaudenaikainen altistuminen aflatoksiini B1:lle, alkoholille ja tupakalle: kokeellisista epidemiologisiin tutkimuksiin. Dosis 2024;40(3):268–83.

Tiivistelmä

Johdanto

Raskaudenaikainen kemikaalialtistus voi haitata normaalia sikiönkehitystä. Homemyrkky aflatoksiini B1 on WHO:n arvion mukaan eniten terveyshaittoja aiheuttava ruoan kemiallinen kontaminaatio maailmassa. Vaikka aflatoksiini B1:n kemiallinen rakenne muistuttaa estrogeenejä, ei sen vaikutuksia istukan hormonituotantoon ole aiemmin tutkittu. Raskaudenaikainen alkoholinkäyttö ja tupakointi ovat kaksi yleisintä ennalta ehkäistävissä olevaa elinikäisten kehityshäiriöiden ja heikentyneen terveyden aiheuttajaa syntymättömässä lapsessa. Tästä huolimatta raskaudenaikaisen alkoholinkäytön yleisyyttä on Suomessa tutkittu varsin vähän eikä naisten ja puolisojen alkoholinkäyttöä ja tupakointia ole juurikaan tutkittu yhdessä.

Aineisto ja menetelmät

Tämä väitöstutkimus on osa Kuopion syntymäkohorttitutkimusta (KuBiCo), jonka tavoitteena on eri keinoin valaista raskaudenaikaisten ympäristötekijöiden vaikutuksia raskaana olevan naisen ja tämän jälkeläisen terveyteen. Väitöskirjatutkimuksessa selvitettiin aflatoksiini B1:n vaikutuksia istukan korionkarsinoomasolujen (JEG-3-solujen) hormonitoimintaan sekä tarkasteltiin vanhempien alkoholinkäyttöä ja tupakointia 21 472 raskautta käsittävässä kohortissa. Lisäksi tutkimuksessa kartoitettiin puolison juomisen ja tupakoinnin yhteyttä naisen raskaudenaikaiseen alkoholinkäyttöön ja tupakointiin.

Tulokset

JEG-3-solukokeissa aflatoksiini B1 lisäsi 72–96 tunnin altistuksen jälkeen sekä *CYP19A1*-geenin ilmentymistä että kyseisen geenin koodaaman aromataasientsyymin aktiivisuutta. Koska aromataasi on keskeinen entsyymi estrogeenien tuotannossa, viittaa tulos aflatoksiini B1:n kykyyn häiritä istukan hormonitasapainoa. Kohortissa vanhempien alkoholinkäyttö ja tupakointi ennen raskautta olivat yleisiä. Siinä missä suurin osa raskaana olevista naisista lopetti juomisen ja tupakoinnin raskauden myötä, vain harvat puoliset muuttivat tapojaan. Huomionarvoista on, että naisilla tämä muutos kuitenkin tapahtui usein vasta raskauden aikana, minkä vuoksi noin joka kolmannessa raskaudessa kehittyvä lapsi altistui naisen alkoholinkäytölle ja noin joka viidennessä tupakoinnille. Lisäksi puolison alkoholinkäyttö- ja tupakointitottumukset olivat yhdessä naisten alkoholinkäyttöön ja tupakointiin sekä ennen raskautta että raskauden aikana.

Johtopäätökset

Aflatoksiini B1 on potentiaalinen hormonihäiritsijä, joka raskausaikana saattaa häiritä istukan hormonitasapainoa ja jonka vaikutuksia tulisi siten tutkia populaatiotasolla. Huolestuttavaa on, että useissa raskauksissa kehittyvä sikiö altistuu raskaudenaikaiselle alkoholinkäytölle ja tupakoinnille. Koska puolisojen alkoholinkäyttö ja tupakointitottumukset näyttävät vaikuttavan raskaudenaikaisten altistusten yleisyyteen, saattaisi puolisojen käyttötottumusten kartoittamisesta ja niihin vaikuttamisesta olla apua riskiraskauksien tunnistamisessa ja raskaudenaikaisten altistusten ennaltaehkäisyssä.

Avainsanat: aflatoksiini B1, alkoholinkäyttö, puoliset, raskaus, tupakointi, vanhemmat

Johdanto

Raskausaika, erityisesti ensimmäinen raskauskolmannes, on kriittistä aikaa yksilön myöhemmän terveyden kannalta, sillä elinjärjestelmien kehittyminen ja kypsyminen ovat herkkiä ajanjaksoja ulkopuolisten altisteiden aiheuttamille häiriöille. Istukalla on keskeinen merkitys sikiön kasvulle ja kehitykselle (1,2). Sen kautta tarvittavat ravintoaineet ja happi, kuten myös haitalliset yhdisteet, kulkeutuvat naisen verenkierrosta sikiöön, ja kuona-aineet sikiöstä naisen puolelle hävitettäviksi. Lisäksi istukka on raskausaikana elimistön suurin hormoneja, etenkin estrogeeneja, tuottava elin, joka vaikuttaa muun muassa sikiön kehitykseen ja raskauden kulkuun. Hormonitoimintoja ja niiden vaikutuksia häiritseviä aineita kutsutaan hormonihäiritsijöiksi (3). Muutokset raskaudenaikaisessa hormonitasapainossa voivat johtaa kauaskantoisiin ja vakaviin seurauksiin. Esimerkiksi historiassa sattunut dietyylstilbestrolilääkekatastrofi osoitti, että raskaudenaikainen altistuminen estrogeenijohdannaisille voi aiheuttaa altistuneille lapsille ja näiden jälkeläisille syöpää myöhemmin elämässä (4). Yksittäisten lääkeaineiden sijaan yleisimpiä raskaudenaikaisten altistusten lähteitä ovat kuitenkin ravinto, alkoholi ja tupakka.

Ruuan sisältämistä kemiallisista kontaminanteista etenkin homesienten tuottamat aflatoksiinit herättävät huolta (5). Nämä home-myrykyt kontaminoivat helposti kuumissa ja kosteissa olosuhteissa ravitsemuksellisesti merkittäviä ruoka-aineita, kuten maissia, viljaa ja pähkinöitä, minkä vuoksi altistuminen on yleistä etenkin Afrikan ja Aasian maissa. Vaikka aflatoksiineja ja niiden metaboliitteja on löydetty runsain määrin raskaana olevien naisten ja sikiöiden verenkierrosta sekä istukka- ja lapsivesinäytteistä (6–8), ei raskaudenaikaisen altistuksen haitoista kuitenkaan ole paljoa tietoa. Alatoksiineista potenteimman, aflatoksiini B1:n (AFB1), kemiallinen rakenne muistuttaa estrogeeneja, mikä herättää epäilyksen sen mahdollisesta kyvystä toimia hormonihäiritsijänä.

Raskaudenaikainen alkoholinkäyttö ja tupakointi ovat kaksi yleisintä ja ennaltaehkäistävissä olevaa tekijää, jotka voivat aiheuttaa kehittyvällä lapsella pysyviä haittoja (9,10).

Sekä alkoholi että tupakan sisältämät yhdisteet ovat teratogeenisiä ja karsinogeenisiä (eli kehityshäiriöitä ja syöpää aiheuttavia), minkä vuoksi kyseisiä aineita ei suositella lainkaan käytettäväksi raskausaikana. Raskaudenaikainen alkoholinkäyttö ja tupakointi vaurioittavat erityisesti kehittyvää keskushermostoa (11,12). Alkoholin aiheuttamista sikiövaurioista käytetään yleisesti lyhennettä FASD (fetal alcohol spectrum disorders) (10,11). Lisäksi tupakointi on yhteydessä lukuisiin raskauskomplikaatioihin ja myöhemmin ilmeneviin terveyshaittoihin, kuten astmaan ja metaboliseen oireyhtymään (12). Raskaudenaikaisen alkoholinkäytön ja tupakoinnin tunnistaminen on vaikeaa päihteidenkäyttöön liittyvän stigman sekä alkoholin osalta myös alkoholinkohtuuskäytöstä kertovien biomarkkerien puuttumisen vuoksi. Tämän seurauksena etenkin alkoholille altistuneet yksilöt jäävät useimmiten vaille FASD-diagnoosia ja tarvitsemaansa tukea (11). Suomessa tiedot raskaudenaikaisen tupakoinnin yleisyydestä on tallennettu vuodesta 1987 alkaen Suomen syntymärekisteriin (13). Sen sijaan alkoholinkäytön yleisyydestä raskausaikana on vain vähän tietoa. Lisäksi vaikka aiemmat tutkimukset viittaavatkin siihen, että puolison tottumuksilla voi olla vaikutusta naisen käyttäytymiseen (14,15), ei raskaana olevien naisten ja heidän puolisojensa alkoholinkäyttöä tai tupakointia ole juurikaan tutkittu yhdessä.

Tämän väitöskirjatutkimuksen tavoitteena oli tutkia ihmisen istukkasyöpäsolumallin avulla aflatoksiini B1:n potentiaalia toimia hormonihäiritsijänä sekä arvioida vanhempien alkoholinkäyttöä ja tupakointia yli 21 000 raskauden kohortissa. Osatyön I tavoite oli selvittää aflatoksiini B1:n vaikutuksia steroidihormonien metaboliaan JEG-3-soluissa, kun taas osatöissä II ja III tavoitteena oli analysoida raskaana olevien naisten ja heidän puolisojensa itseraportoiman alkoholinkäytön (II) ja tupakoinnin (III) yleisyyttä ennen raskautta ja raskauden aikana sekä näiden tottumusten välisiä korrelaatioita (II–III).

Aineisto ja menetelmät

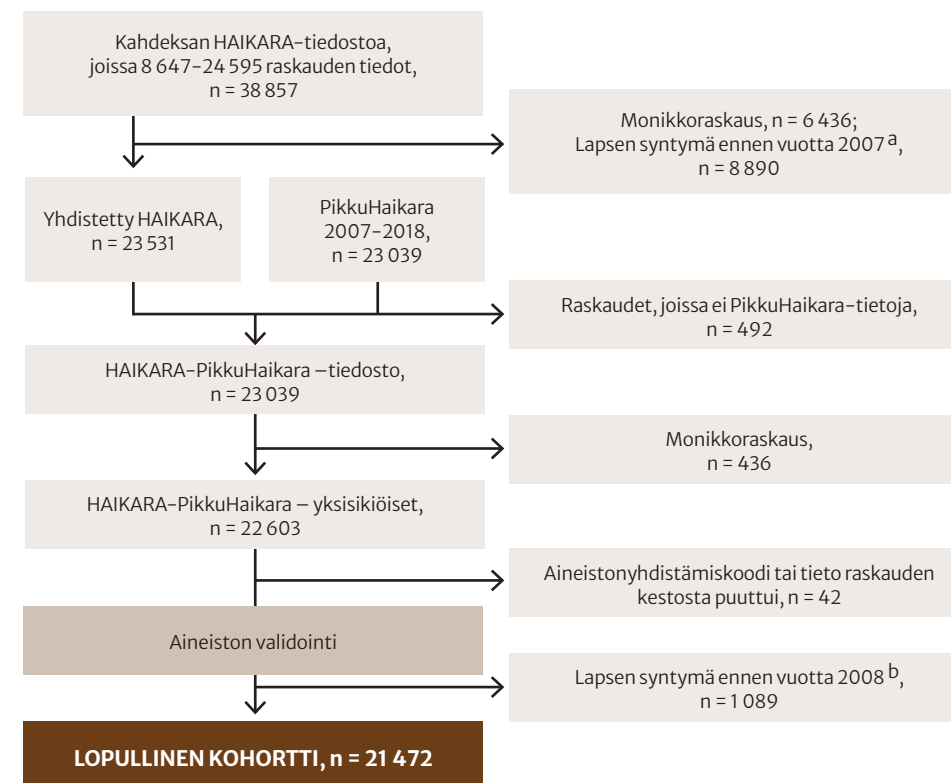
Tämä väitöskirjatutkimus on osa Itä-Suomen yliopiston (UEF), Kuopion yliopistollisen sairaalan (KYS) sekä Terveyden ja hyvinvoinnin

laitoksen (THL) yhteisprojekti Kuopion syntymäkohorttitutkimusta (www.kubico.fi) (16). KuBiCo-tutkimuksen tavoitteena on lisätä ymmärrystä ympäristötekijöiden vaikutuksesta raskaana olevan naisen ja tämän jälkeläisen terveyteen niin kliinisten kuin kokeellisten tutkimusten avulla, ja sillä on Keski-Suomen sairaanhoitopiirin eettisen toimikunnan hyväksyntä.

Kokeelliset tutkimukset

Aflatoksiini B1:n hormonihäiritsijäpotentiaalin selvittämiseksi istukan korionkarsinoomasoluja (JEG-3-soluja) altistettiin aflatoksiini B1:lle 72–96 tunnin ajan. JEG-3-solut ilmentävät steroidimetabolian osallistuvaa aroma-

taasientsyymiä koodaavaa sytokromi P-450 19A1 (CYP19A1) -geeniä täysiaikaisen istukan primaarisolujen tavoin (17). Istukan CYP1A1-entsyymi osallistuu steroidihormonien inaktivaation lisäksi vierasaineiden metaboliaan, ja sen tiedetään indusoituvan raskaudenaikaisesta tupakoinnista (18). Altistuksen jälkeen aflatoksiini B1:n aiheuttamat muutokset kyseisten geenien ilmentymisessä mitattiin RT-PCR:lla (reverse transcription polymerase chain reaction) (19), ja aromataasientsyymin aktiivisuus tuikelaskimella. Lisäksi LC-MS:lla (liquid chromatography–mass spectrometry) avulla määritettiin soluviljelmässä aflatoksiini B1:stä muodostuvia metaboliitteja ja rekombinantti CYP19A1-entsyymi-inkubaatiolla aro-



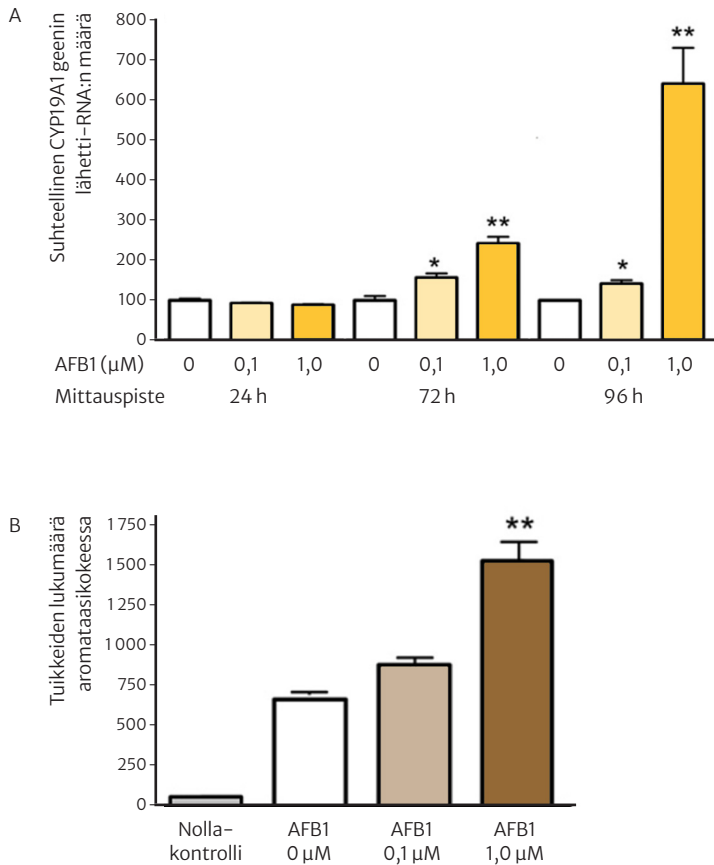
Kuva 1. Kaavio epidemiologisen aineiston kokoamisesta. Kuopion yliopistollisen sairaalan (KYS) HAIKARA-tietokannan tiedot yhdistettiin neuvoloissa sähköisesti kerätyn PikkuHaikara-aineiston kanssa siten, että lopullinen kohortti sisälsi tiedot 21 472 yksiköisen lapsen syntymästä KYS:ssä tammikuun 2009 ja toukokuun 2018 välillä. ^a Tietoja vanhempien alkoholinkäytöstä ja tupakoinnista ei vielä kerätty; ^b Vanhempien alkoholinkäyttö ja tupakointitottumusten selvittäminen alkoi vuonna 2008, minkä vuoksi tiedot puuttuivat vielä hyvin usein.

mataasientsyymien osallisuutta aflatoksiini B1:n metaboliaan.

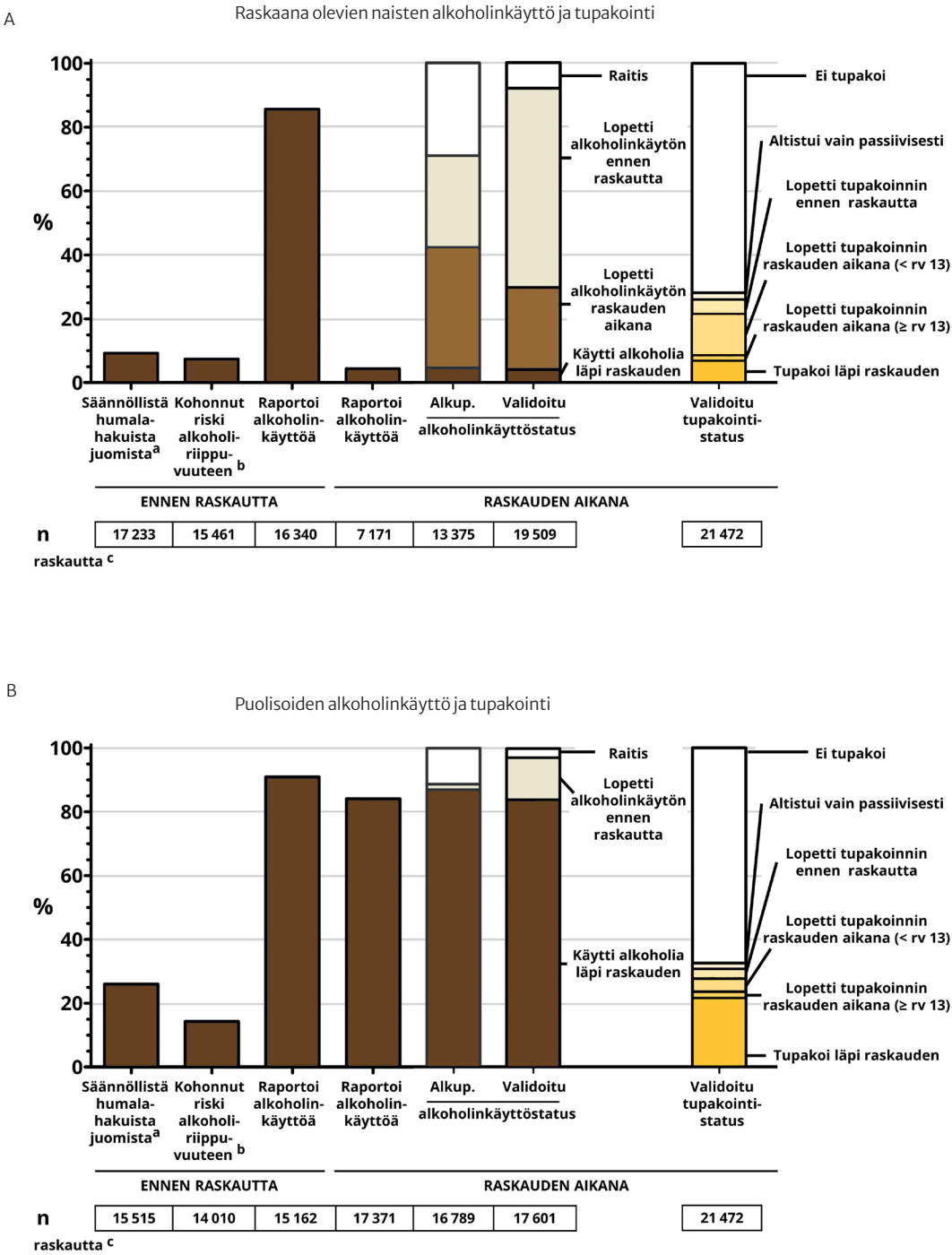
Kohortti

Vanhempien alkoholinkäytön ja tupakoinnin tutkimiseksi koottiin kohortti (Kuva 1), joka koostui Kuopion alueen neuvoloiden sähköisen PikkuHaikara-tietokannan ja Kuopion yliopistollisen sairaalan eli KYS:n Haikara-rekisterin tiedoista. Raskaana olevat naiset saivat ensimmäisen neuvolakäyntinsä yhteydessä tunnuksen PikkuHaikara-kyselylomakkeelle, jonne he pystyivät kirjaamaan tiedot sekä heidän itsensä että puolisoitensa alkoholinkäytöstä ja tupa-

koinnista ennen raskautta ja raskauden aikana. Haikara-rekisterissä vanhempien päihteiden käyttöön liittyvät tiedot olivat terveydenhuoltohenkilökunnan tallentamia. Lopullisessa kohortissa oli tiedot 14 822 naisesta ja 21 472 yksisikiöisestä raskaudesta, joissa lapsi oli syntynyt 22. kokonaisen raskausviikon jälkeen KYS:ssa tammikuun 2009 ja toukokuun 2018 välillä. Kohortissa oli yli 250 muuttujaa, joissa oli vanhempien demografisten tietojen (mm. ikä, parisuhdestatus sekä naisilla raskauksien ja synnytysten lukumäärä) lisäksi myös raskauden kulkua ja lopputulemaa kuvaavia tietoja



Kuva 2. Aflatoksiini B1:n (AFB1) vaikutukset ihmisen istukan korionkarsinoomasoluissa. Aflatoksiini B1 lisäsi JEG-3-soluissa 72 tunnin altistuksen jälkeen sekä (A) CYP19A1-geenin ilmentymistä että (B) sen koodaaman estrogeenia tuottavan aromataasientsyymien aktiivisuutta. Tuikoiden lukumäärä kuvaa radioaktiivisuuden lisääntymistä aromataasientsyymien muuttaessa 3H-leimatus androstenedionin estrogeeniksi. * $p < 0,05$; ** $p < 0.01$. Muokattu julkaisusta Storvik ym. 2011 (1).



Kuva 3. Raskaana olevien naisten (A) ja heidän puolisoitensa (B) alkoholinkäyttö ja tupakointi ennen raskautta ja raskauden aikana 21 472 raskautta käsittävässä kohortissa. a Säännöllinen humalahakuinen juominen viittaa kuuden tai useamman alkoholiannoksen nauttimiseen kerrallaan vähintään 2 kertaa kuukaudessa; b Kohonnut riski alkoholiriippuvuuteen vastaa naisilla ≥ 7 ja puolisoilla ≥ 8 AUDIT-testin kokonaispistettä; c Raskauksien lukumäärä, jossa oli tieto kyseisestä muuttujasta.

(mm. raskauden kesto, lapsen mitat, tieto ras-
kauteen ja synnytykseen liittyneistä kompli-
kaatioista, tarvittut hoitotoimenpiteet, raskau-
denaikaisten kontrollikäyntien lukumäärä sekä
sairaalassa synnytyksen jälkeen vietetty aika).
Vanhempien alkoholinkäytön riskikäyttäyty-
mistä raskautta edeltävän vuoden aikana selvi-
tettiin AUDIT (Alcohol Use Disorders Identifi-
cation Test) -kyselyn avulla (20), minkä lisäksi
kysyttiin alkoholinkäytön yleisyyttä sekä vii-
koittaista alkoholiannosten määrää raskaus-
aikana. Tupakointitottumuksista sen sijaan
kerättiin tietoa Fagerströmin kahden kysy-
myksen nikotiiniriippuvuustestillä (Heaviness
of Smoking Index, HSI) (21) sekä useilla erilai-
silla väittämillä.

Raskaudenaikaisen päihteidenkäytön sensi-
tiivisyyden vuoksi aineistossa oli paljon puut-
tuvia ja ristiriitaisia tietoja. Vaikka yksittäi-
sistä arvoista puuttui vain noin 14 %, oli vain
vajaassa 9 %:ssa kaikista raskauksista kaikkien
muuttujien kaikki tiedot. Niinpä puuttuvien ja
ristiriitaisten tietojen määrää pyrittiin vähen-
tämään alkoholinkäyttöä ja tupakointia kuvaavien
muuttujien ristiinvalidoinnilla, missä otet-
tiin huomioon vanhemman muissa alkoholin-

käyttöä ja tupakointia koskevissa muuttujissa
olevat tiedot. Loput puuttuvat tiedot käsiteltiin
moni-imputaation (MI) avulla. Moni-imputaa-
tio ottaa huomioon niin kaiken kerätyn tiedon
kuin paikattuihin arvoihin liittyvän epävar-
muuden ja lisää statistista voimaa (22,23).

Tulokset

Kokeissa aflatoksiini B1 tai sen metaboliitti
lisäsi JEG-3-soluissa sekä CYP19A1-geenin
ilmentymistä että sen koodaaman aromataa-
sientsyymin aktiivisuutta solujen altistusajan
ollessa vähintään 72 tuntia (Kuva 2). Ainoa
metaboliitti, jota aflatoksiini B1:stä soluvil-
jelmissä syntyi, oli aflatoksikoli, jonka muo-
dostumiseen rekombinantientsyymi-inku-
baation perusteella nimenomaan aromataasi
osallistui. Sen sijaan aflatoksiini B1:n vaikutus
CYP1A1-geenin ilmentymiseen ei ollut annos-
riippuvainen.

Kohorttitutkimuksessa sekä alkoholinkäyttö
että tupakointi oli yleistä (Kuva 3). Suu-
rin osa niin raskaana olevista naisista kuin hei-
dän puolisoistaan käytti alkoholia raskautta
edeltävän vuoden aikana, minkä lisäksi myös

alkoholin riskikäyttö (humalahakuinen juo-
minen tai kohonnut riski alkoholiriippuvuu-
teen) oli tavanomaista. Naisista noin 4 % ker-
toi käyttävänsä alkoholia raskausaikanaan.
Tästä huolimatta moni nainen lopetti alkoho-
linkäytön todennäköisesti vasta raskautensa
aikana. Aineiston validointi vähensi puuttu-
vien ja ristiriitaisten tietojen määrää, ja vali-
doidun raskaudenaikaista alkoholinkäyttöä-
tusta kuvaavan muuttujan mukaan 30 % ras-
kauksista kehittyvä lapsi saattoi altistua naisen
raskaudenaikaiselle alkoholinkäytölle.

Tupakoinnin osalta, muuttujien ristiinva-
lidoinnilla saatiin tupakointistatus niin ras-
kaana oleville naisille kuin heidän puolisoilleen
kaikkiin aineiston raskauksiin. Tämän perus-
teella noin joka neljännessä kohortin raskauk-
sista nainen ja joka kolmannessa puoliso tupa-
koi ennen raskautta (Kuva 3). Naiset lopettivat
tupakoinnin harvemmin kuin alkoholinkäyt-
tönsä, ja useimmiten tupakoinnin lopettami-
nen tapahtui raskauden aikana. Niinpä noin
22 % raskauksista lapsi altistui naisen tupa-
koinnille kehityksensä aikana. Puolisot eivät
sen sijaan usein muuttaneet tottumuksiaan
raskauden myötä, ja verrattuna naisiin he
lopettivat ennemmin tupakoinnin kuin alko-
holinkäytön.

Puolisoiden alkoholinkäyttö ja tupakointi
olivat yhteydessä naisen alkoholinkäyttöön
ja tupakointiin niin ennen raskautta kuin ras-
kauden aikana (Kuva 4). Alkoholinkäytön osalta posi-
tiivinen korrelaatio käyttötottumusten välillä
oli suurempi ennen raskautta kuin raskauden
aikana, kun taas tupakoinnin osalta korrelaa-
tion suuruus oli suurin piirtein sama ennen
raskautta ja raskauden aikana. Lisäksi puoli-
soiden alkoholinkäyttö ennen raskautta kor-
reloi positiivisesti naisten raskaudenaikaisen
tupakoinnin kanssa. Nämä tulokset viittaavat
siihen, että parien alkoholinkäyttö- ja tupa-
kointitottumukset ovat samankaltaisia ennen
raskautta ja että puolisoiden käyttötottumuk-
set voivat vaikuttaa naisen raskaudenaikaiseen
alkoholinkäyttöön ja tupakointiin.

Pohdinta

Tämä väitöskirjatutkimus tuotti uutta tutki-
mustietoa kolmesta merkittävästä raskauden-
aikaisesta altisteesta. Siinä selvitettiin tiettä-

västi ensimmäisen kerran aflatoksiini B1:n
potentiaalia toimia hormonihäiritsijänä ihmi-
sen korionkarsinoomasolumallin avulla sekä
tutkittiin raskaana olevien naisten ja heidän
puolisoidensa alkoholinkäyttö- ja tupakointi-
tottumuksia laajassa yli 21 000 raskautta käsit-
tävässä kohortissa. Tutkimuksen tietoja voi-
daan käyttää apuna suunniteltaessa keinoja
raskaudenaikaisten haitallisten altistumisten
ennaltaehkäisyyn sekä kehitettäessä tervey-
denhuollon palveluita.

Kokeellisessa tutkimuksessa aflatoksiini
B1 vaikutti JEG-3-solujen hormonituotan-
toon, mikä viittaa aflatoksiini B1:n kykyyn
toimia hormonihäiritsijänä. JEG-3-soluko-
keissa aflatoksiini B1 lisäsi sekä estrogeeni-
tuotantoon osallistuvan aromataasientsyy-
miä koodaavan CYP19A1-geenin ilmenty-
mistä että itse entsyymien aktiivisuutta, mikä
on linjassa myöhemmin samalla solulinjalla
tehtyjen kokeiden kanssa (24), mutta vas-
takkainen primaarisoluilla saatujen tulosten
kanssa (25). JEG-3- ja primaarisoluilla saatu-
jen tulosten vastakkaisuus on yllättävää, sillä
molemmissa solutyypeissä CYP19A1-geenin
ilmentymistä säätelee sama istukkaspesifi-
nen promootorialue (26). Tulosten eroavai-
suus saattaa johtua muista syöpäsolulinjan
solujen ja primaarisolujen välisistä eroista
(17). Koska sekä istukan aromataasientsyy-
min inhibio (27) että estrogeenien ylimäärä
(3,4) voi olla haitallista, olisi tulevaisuudessa
tärkeää selvittää raskaudenaikaisen aflatok-
siini B1 altistuksen vaikutuksia estrogeenipi-
toisuuksiin populaatiotasolla. Asian ajankoh-
taisuutta ja tärkeyttä korostaa ilmastonmuu-
tos, jonka seurauksena homemyrkyille altis-
tuminen tulee todennäköisesti lisääntymään
maailmanlaajuisesti (28).

Kohorttitutkimuksessa saatiin kattava kuva
itäsuomalaisten vanhempien alkoholinkäy-
töstä ja tupakoinnista raskauden aikaan, sillä
kohortti kattoi yli 95 % kaikista alueen otos-
ajankohdan synnytyksistä. Vaikka useimmat
naiset lopettivat alkoholinkäytön ja tupakoin-
nin, huolestuttavaa oli, että moni lopetti näiden
aineiden käytön vasta raskauden aikana, sillä
nimenomaan alkuraskaus on alkion kehityksen
kannalta herkkää aikaa eikä raskaudenaikai-
selle alkoholialtistukselle ole olemassa turva-
rajaa (11). Lisäksi kohortissa alkuraskaudenai-

Kuva 4. Spearmanin korrelaatiokertoimet raskaana olevien naisten ja heidän puolisoidensa alkoholinkäyttöä ja tupakointia kuvaavien muuttujien välillä. Luvut osoittavat, että vanhempien alkoholinkäyttö- ja tupakointitottumusten välillä oli positiivinen yhteys sekä ennen raskautta että raskauden aikana. Kaikki kuvassa olevat korrelaatiot ovat tilastollisesti merkitseviä (p < 0.0002) ja kuvaavat MI datan (n = 21 472) tuloksia.



kainen tupakointi oli yleisempää kuin muualla Suomessa tai Pohjoismaissa (29,30).

Raskaudenaikaisen päihteidenkäytön tunnistaminen on hankalaa, sillä häpeän ja syyllisyydentunteen vuoksi sitä ei usein haluta tunnustaa. Tutkimuksessa aiheen sensitiivisyys heijastui myös puuttuvien tietojen määrään, sillä tiedot puuttuivat useimmin nimenomaan raskaudenaikaista käyttöä kuvaavista muutujista. Tupakoinnin osalta validoinnin avulla saatiin luotua tupakointistatus-muuttuja kaikille naisille ja heidän puolisoilleen jokaiseen kohortin sisältämään raskauteen. Tässä muutujassa raskauden myöhemmässä vaiheessa tupakoinnin lopettaneiden ja läpi raskauden tupakointia jatkaneiden yhteismäärä (8,7 %) vastasi samasta populaatiosta mitattujen raskaana olevien naisten positiivisten kotiniini-näytteiden määrää (8,5 %) (16), mikä antaa viitteitä sekä validoinnin onnistumisesta että tulosten luotettavuudesta tupakoinnin osalta.

Sen sijaan raskaudenaikaisen alkoholinkäytön osalta tulokset ovat todennäköisesti vain jäävuoren huippu. Kun tässä tutkimuksessa noin joka neljäs nainen lopetti alkoholinkäytön raskautensa aikana, on raskaudenaikainen lopettaminen ollut muissa tutkimuksissa paljon tätä yleisempää (31,32). Lisäksi, kun verrattiin alkoholinkäyttöä raskaudenaikana jatkaneiden naisten (4 %) juomatottumuksia alkoholinkäytön lopettaneisiin naisiin, havaittiin heidän juovan enemmän ja useammin jo ennen raskautta kuin juomisen lopettaneet naiset, mikä viittaa alkoholinkäyttöongelmiin. Kun otetaan huomioon, kuinka suuri osa väestöstä käyttää alkoholia ainakin satunnaisesti, raskaudenaikaisen alkoholinkäytön haitallisuudesta ja merkityksestä puhutaan aivan liian vähän niin Suomessa kuin Euroopassa. Esimerkiksi Euroopan perinataaliterveyden tilastoissa alkoholia ei ole käsitelty lainkaan (33) eikä Suomessa toistaiseksi ole ainoatakaan tutkimusta, jossa olisi tarkasteltu FASD:n yleisyyttä populaatiotasolla. Kuitenkin noin yhdessä raskaudessa kolmesta toista, jossa on raskaudenaikaista alkoholialtistusta, syntyy lapsi, jolla on FASD (11). Koska suurin osa näistä tapauksista jää diagnosimatta ja vaille tarvitsemaansa tukea ja koska kyseessä on elinikäinen vamma, on raskaudenaikaisen alkoholinkäytön hinta niin altistuneelle lapselle kuin yhteiskunnalle suuri.

Merkillepantavaa oli myös se, että aineistossa puolisoiden ja raskaana olevien naisten alkoholinkäyttö- ja tupakointitottumusten välillä vallitsi positiivinen korrelaatio. Tämä viittaa siihen, että puolisoiden juoma- ja tupakointitottumukset voivat vaikuttaa naisen raskaudenaikaiseen päihteidenkäyttöön. Neuvoiloissa tulisikin kiinnittää huomiota myös puolisoiden haitallisiin elintapoihin, sillä nimenomaan kyvyttömyys tunnistaa raskausaikana alkoholia käyttävät ja tupakoivat naiset sekä näille aineille altistuneet lapset, on suurin este erityisen tuen tarjoamisessa mahdollisimman varhaisessa vaiheessa (11). Se, että puolisoita ei nykyisellään oteta riittävästi huomioon neuvolapalveluissa, saattaa olla syy siihen, miksi tässä ja muissa tutkimuksissa raskaus yksistään ei vaikuta olevan puolisoille riittävä syy tehdä muutoksia omiin tottumuksiin (14,35,36). Toisin kuin raskaana olevilla naisilla, puolisoilla elintapamuutos kohdistui ennemmin tupakointiin kuin alkoholinkäyttöön. Tämä havainto on yhteneväinen muiden tutkimusten kanssa (15,34,35).

Johtopäätökset

Tämän väitöskirjatutkimus selvitti sekä home-myrkky aflatoksiini B1:n potentiaalia häiritä istukan hormonitoimintoja että vanhempien alkoholinkäyttöä ja tupakointia raskauden aikaan. Tutkimus vihjasi ensimmäisen kerran aflatoksiini B1:n potentiaaliin toimia hormonihäiritsijänä, sillä JEG-3-soluissa aflatoksiini B1 vaikutti estrogeenien tuotantoon lisäämällä CYP19A1-geenin ilmentymistä ja kyseisen geenin koodaaman aromataasientsyymin aktiivisuutta. Niinpä raskaudenaikaisella aflatoksiini B1-altistuksella saattaa olla vaikutuksia istukan hormonitasapainoon, ja jatkossa on ensiarvoisen tärkeää selvittää aflatoksiini B1:n vaikutuksia populaatiotasolla.

Tutkimus osoitti myös, että alkoholin ja tupakan käyttö ennen raskautta on yleistä, ja että siinä missä naiset useimmiten lopettavat näiden aineiden käytön raskauden myötä, ei raskaus juurikaan vaikuta kumppanien käyttötottumuksiin. Huolestuttavaa on, että raittius-suosituksista huolimatta merkittävässä osassa raskauksista kehittyvä lapsi altistui alkoholille ja tupakalle, sillä useat naiset lopettivat näiden

aineiden käytön vasta huomattuaan olevansa raskaana. Lisäksi merkillepantavaa oli, että puolisoiden alkoholinkäyttö- ja tupakointitottumukset olivat yhteydessä raskaana olevien naisten alkoholinkäytön ja tupakoinnin kanssa niin ennen raskautta kuin raskauden aikana. Siten puolison alkoholinkäyttö- ja tupakointitottumukset saattavat vaikuttaa tahattomien altistusten yleisyyteen alkuraskaudessa ja raskaudenaikaisten altistusten pitkittymiseen. Tämän väitöskirjatutkimuksen tuloksia voidaan hyödyntää neuvolapalveluita kehitettäessä ja resursseja suunniteltaessa. Esimerkiksi puolisoiden päihteidenkäyttötottumusten kar-toittamisesta ja niihin vaikuttamisesta saattaisi olla apua erityistä tukea tarvitsevien raskaana olevien naisten tunnistamisessa sekä raskaudenaikaisten altistusten ennaltaehkäisyssä.

Summary

Gestational exposure to aflatoxin B1, alcohol, and tobacco: From in vitro investigations to epidemiological studies

Taija Voutilainen

Ph.D. (Pharm.)

University of Eastern Finland

currently Senior Specialist at Finnish Institute for Health and Welfare (THL)

taija.voutilainen@thl.fi

The doctoral thesis of MSc (Pharm.) Taija Voutilainen – Gestational exposure to aflatoxin B1, alcohol, and tobacco: From in vitro investigations to epidemiological studies – was inspected at the University of Eastern Finland (UEF), Faculty of Health Sciences, School of Pharmacy on December 8th, 2023. The opponent was Professor Terhi Piltonen (MD, PhD, University of Oulu, Oulu University Hospital) and custos Professor Jaana Rysä (PhD, UEF). The doctoral thesis can be found from the eRepository of the University of Eastern Finland: <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-61-5011-6>.

Introduction

Gestational exposure to chemicals can negatively impact fetal development. Aflatoxin B1 is a mycotoxin which has been rated by the WHO as the number one health concern among the food-borne chemical contaminants. Although the chemical structure of aflatoxin B1 resembles that of estrogens, its effects on placental hormone metabolism are unknown. Gestational alcohol and tobacco use are the two most prevalent preventable causes for fetal mortality and morbidity with potential life-long consequences on the individual's health. Despite this, there has been no large-scale epidemiological studies investigating the frequency of gestational alcohol use in Finland and there is a lack of studies in which the alcohol and tobacco use by both parents are investigated.

Methods

This thesis is part of Kuopio birth cohort study (KuBiCo) that aims to increase our understanding on the impacts gestational exposures have on the health of the expectant woman and her

child. It studied the effects of aflatoxin B1 on the placental steroid metabolism by using human placental JEG-3 cell line and analyzed parental alcohol and tobacco use before and during pregnancy in a cohort of 21 472 pregnancies. Furthermore, it investigated the correlations between the alcohol and tobacco use behavior of the pregnant women and their spouses.

Results

In JEG-3 cells, aflatoxin B1 induced the expression of CYP19A1 gene, and the activity of the aromatase enzyme coded by this gene after a 72–96-hour exposure. As aromatase is a key enzyme in estrogen metabolism, the results imply that aflatoxin B1 could potentially impair placental hormone metabolism. In the cohort of 21 472 pregnancies, parental alcohol and tobacco use were prevalent before pregnancy. It was noteworthy, that although most women ceased drinking and smoking, in about one third of the pregnancies there was gestational exposure to maternal alcohol use and in one fifth to maternal smoking, as in many of the cases the cessation took place while they were already pregnant. Compared to pregnant women, the spouses seldomly changed their behavior. However, the alcohol use and smoking behavior of the spouses was associated with women's alcohol use and smoking both before and during pregnancy.

Conclusions

Aflatoxin B1 is a potential endocrine disruptor, and gestational exposure to it may affect placental hormone homeostasis. Therefore, in the future, it is important to investigate its effect at a population level. Also, it is worrying in how many pregnancies there was gestational exposure to maternal alcohol and tobacco use. However, as spouses' alcohol drinking and cigarette smoking may contribute to the unintentional and continued gestational exposure to these substances, screening their alcohol and tobacco use in the reproductive health care could help in identifying risky pregnancies and preventing gestational exposures.

Key words: aflatoxin B1, alcohol drinking habits, cigarette smoking, parents, pregnancy, spouses

Sidonnaisuudet

Ei sidonnaisuuksia.

Kiitokset

Lämmin kiitos vastaväittäjälleni professori Terhi Piltoselle sekä kaikille neljälle ohjaajalleni, professori Jaana Rysälle, emeritusprofessori Markku Pasaselle, dosentti Olli Kärkkäiselle sekä dosentti Pasi Huuskoselle. Erityiskiitos väitöskirjatutkimustani rahoittaneille säätiöille: Alkoholitutkimussäätiölle, Suomen kulttuurirahaston Pohjois-Savon rahastolle sekä Orionin tutkimussäätiölle. Kiitän myös professori Ewen MacDonaldia ja datamanageri Ari Voutilaista avusta väitöskirjaprosessin aikana.

Viitteet

1. Chatuphonprasert W, Jarukamjorn K, Ellinger I. Physiology and Pathophysiology of Steroid Biosynthesis, Transport and Metabolism in the Human Placenta. *Front Pharmacol.* 2018;9:1–29. DOI: 10.3389/FPHAR.2018.01027
2. Gude NM, Roberts CT, Kalionis B, King RG. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res.* 2004;114(5–6):397–407. DOI: 10.1016/J.THROMRES.2004.06.038
3. Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine Disrupting Chemicals and Disease Susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(3–5):204–13. DOI: 10.1016/J.JSBMB.2011.08.007
4. Reed CE, Fenton SE. Exposure to Diethylstilbestrol during Sensitive Life Stages: A Legacy of Heritable Health Effects. *Birth Defects Res (Part C).* 2013;99:134–46. DOI: 10.1002/bdrc.21035
5. WHO Estimates of the global burden of foodborne diseases: Foodborne disease burden epidemiology reference group 2007–2015. *Maaailman terveystajrjestö (WHO).* 2015. Saatavissa: www.who.int/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases
6. Ibeh NI, Oronsaye PI, Unuabonah UI. Studies on Aflatoxin, Prenatal Exposure and Its Toxicosis in Adamawa Sate, North East of Nigeria. *Appl Food Biotechnol.* 2014;1(1):29–33. DOI: 10.22037/AFB.V1I1.7129
7. Andrews-Trevino JY, Webb P, Shively G, Rogers B, Baral K, Davis D, ym. Dietary determinants of aflatoxin B1-lysine adduct in pregnant women consuming a rice-dominated diet in Nepal. *Eur J Clin Nutr.* 2020;74(5):732–40. DOI: 10.1038/S41430-019-0554-2
8. Hsieh L-L, Hsieh T-T. Detection of Aflatoxin B1-DNA Adducts in Human Placenta and Cord Blood. *Cancer Research. American Association for Cancer Research.* 1993;53(6):1278–80.
9. Lange S, Probst C, Rehm J, Popova S. National, regional, and global prevalence of smoking during pregnancy in the general population: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Heal.* 2018;6(7):e769–76. DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30223-7
10. Popova S, Lange S, Probst C, Gmel G, Rehm J. Estimation of national, regional, and global prevalence of alcohol use during pregnancy and fetal alcohol syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Glob Heal.* 2017;5(3):e290–9. DOI: 10.1016/S2214-109X(17)30021-9
11. Popova S, Charness ME, Burd L, Crawford A, Hoyme HE, Mukherjee RAS, ym. Fetal alcohol spectrum disorders. *Nat Rev Dis Prim.* 2023;9:11. DOI: 10.1038/s41572-023-00420-x
12. Avşar TS, McLeod H, Jackson L. Health outcomes of smoking during pregnancy and the postpartum period: an umbrella review. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):254. DOI: 10.1186/s12884-021-03729-1
13. Jaakkola N, Jaakkola MS, Gissler M, Jaakkola JJ. Smoking during pregnancy in Finland: determinants and trends, 1987–1997. *Am J Public Health.* 2001;91(2):284–6. DOI: 10.2105/AJPH.91.2.284
14. Kendler KS, Larsson Lönn S, Salvatore J, Sundquist J, Sundquist K. The Origin of Spousal Resemblance for Alcohol Use Disorder Supplemental content. *JAMA Psychiatry.* 2018;75(3):280–6. DOI: 10.1001/jamapsychiatry.2017.4457
15. Everett KD, Bullock L, Longo DR, Gage J, Madsen R. Men's tobacco and alcohol use during and after pregnancy. *Am J Mens Health.* 2007;1(4):317–25. DOI: 10.1177/1557988307299477
16. Huuskonen P, Keski-Nisula L, Heinonen S, Voutilainen S, Tuomainen T-P, Pekkanen J, ym. Kuopio birth cohort – design of a Finnish joint research effort for identification of environmental and lifestyle risk factors for the wellbeing of the mother and the newborn child. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018;18:381. DOI: 10.1186/s12884-018-2013-9
17. Karahoda R, Kallol S, Groessl M, Ontsouka E, Anderle P, Fluck C, ym. Revisiting Steroidogenic Pathways in the Human Placenta and Primary Human Trophoblast Cells. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1–18. DOI: 10.3390/IJMS22041704
18. Pasanen M, Haaparanta T, Sundin M, Sivonen P, Vakakangas K, Raunio H, ym. Immunochemical and molecular biological studies on human placental cigarette smoke-inducible cytochrome P-450-dependent monooxygenase activities. *Toxicology.* 1990;62(2):175–87. DOI: 10.1016/0300-483X(90)90108-S
19. Huuskonen P, Storvik M, Reinisalo M, Honkakoski P, Rysä J, Hakkola J, ym. Microarray analysis of the global alterations in the gene expression in the placentas from cigarette-smoking mothers. *Clin Pharmacol Ther.* 2008;83(4):542–50. DOI: 10.1038/SJ.CLPT.6100376

20. Babor T, Higgins-Biddle J, Saunders J, Monteiro M. AUDIT: The Alcohol Use Disorders Identification Test: Guidelines for Use in Primary Care. 2. painos. World Health Organization (WHO). 2001. Saatavissa:

www.who.int/publications/i/item/audit-the-alcohol-use-disorders-identification-test-guidelines-for-use-in-primary-health-care

21. Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, Rickert W, Robinson J. Measuring the heaviness of smoking: using self-reported time to the first cigarette of the day and number of cigarettes smoked per day. *Br J Addict.* 1989;84(7):791–800. DOI: 10.1111/J.1360-0443.1989.TB03059.X

22. Graham JW. Missing Data Analysis: Making It Work in the Real World. *Annu Rev Psychol.* 2009;60:549–76. DOI: 10.1146/annurev.psych.58.110405.085530

23. Van Ginkel JR, Linting M, Rippe RCA, Van Der Voort A. Rebutting Existing Misconceptions About Multiple Imputation as a Method for Handling Missing Data. *J Pers Assess.* 2019;102(3):297–308. DOI: 10.1080/00223891.2018.1530680

24. Huuskonen P, Myllynen P, Storvik M, Pasanen M. The effects of aflatoxin B1 on transporters and steroid metabolizing enzymes in JEG-3 cells. *Toxicol Lett.* 2013;218(3):200–6. DOI: 10.1016/J.TOXLET.2013.01.015

25. El-Dairi R, Rysä J, Storvik M, Pasanen M, Huuskonen P. Aflatoxin B1 targeted gene expression profiles in human placental primary trophoblast cells. *Curr Res Toxicol.* 2022;3:100082. DOI: 10.1016/J.CRTOX.2022.100082

26. Harada N, Yoshimura N, Honda SI. Unique regulation of expression of human aromatase in the placenta. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2003;86(3–5):327–34. DOI: 10.1016/S0960-0760(03)00375-3

27. Wang Y, Pan P, Li X, Zhu Q, Huang T, Ge RS. Food components and environmental chemicals of inhibiting human placental aromatase. *Food Chem Toxicol.* 2019;128:46–53. DOI: 10.1016/J.FCT.2019.03.043

28. Battilani P, Toscano P, Van Der Fels-Klerx H, Moretti A, Leggieri MC, Brera C, ym. Aflatoxin B1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. *Sci Rep.* 2016;6:24328. DOI: 10.1038/srep24328

29. Heino A, Gissler M. Pohjoismaiset perinataalilastot 2018: 35 vuotta täyttäneiden synnyttäjien osuus Suomessa Pohjoismaiden korkein. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos (THL). [Internet] 5.5.2020. Saatavissa: www.julkari.fi/handle/10024/139764

30. Rumrich IK, Vähäkangas K, Viluksela M, Gissler M, Surcel H-M, Korhonen A, ym. Smoking during pregnancy in Finland – Trends in the MATEX cohort: *Scand J Public Health.* 2018;47(8):890–8. DOI: 10.1177/1403494818804417

31. Alvik A, Heyerdahl S, Haldorsen T, Lindemann R. Alcohol use before and during pregnancy: a population-based study. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006;85(11):1292–8. DOI: 10.1080/00016340600589958

32. Lehtinen E, Ekblad M. Alkoholien käyttö raskauden ensiviikkoina on edelleen yleistä. *Lääkärilehti* 2023;78:e36031. Saatavissa: www.laakarilehti.fi/e36031

33. European Perinatal Health Report. Core indicators of the health and care of pregnant women and babies in Europe in 2015 [Internet] Marraskuu 2018. Saatavissa: www.europeristat.com

34. Román-Gálvez R, Amezcua-Prieto C, Olmedo-Requena R, Saad AL-M, Martínez-Galiano J, Bueno-Cavanillas A. Partner smoking influences whether mothers quit smoking during pregnancy: a prospective cohort study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2018;125(7):820–7. DOI: 10.1111/1471-0528.14986

35. Shawe J, Patel D, Joy M, Howden B, Barrett G, Stephenson J. Preparation for fatherhood: A survey of men's preconception health knowledge and behaviour in England. *PLoS One.* 2019;14(3):e0213897. DOI: 10.1371/journal.pone.0213897

Voutilainen T. Raskaudenaikainen altistuminen aflatoksiini B1:lle, alkoholille ja tupakalle: kokeellisista epidemiologisista tutkimuksista. *Dosis* 2024;40(3):268–83.