

Biologiske effekter av miljøgift-forurensning

Av Ketil Hylland

Ketil Hylland er forskningsleder ved NIVA

Sammendrag

Det er særlig to årsaker til at vi er bekymret for miljøgifter i våre omgivelser. Den ene årsaken er at vi ikke ønsker at vi selv skal få i oss miljøgifter gjennom luft, drikkevann og/eller mat. Den andre årsaken er en bekymring for at miljøgiftene skal skade naturen. Denne artikkelen gir en oversikt over metodene som benyttes til å overvåke effekter av miljøgifter. De økologiske effektene av miljøgifter kan identifiseres gjennom endringer på populasjoner eller samfunn, effekter på overlevelsen av og/eller helsetilstanden til organismer. I de fleste situasjoner vil det være nødvendig å benytte en kombinasjon av metoder, både kjemiske og biologiske, for å kunne besvare problemstillinger om effekter av miljøgifter. Et annet viktig aspekt er kvaliteten til analysene som utføres. Det er nylig igangsatt et viktig europeisk initiativ for interkalibrering og kvalitetssikring av biologisk effekt metoder. Selv om vi etterhvert har fått mer kunnskaper om egenkapene til mange aktuelle biomarkører, er det viktig å være klar over at det fremdeles er behov for mer kunnskap

om mekanismer og interaksjoner med naturlige prosesser.

Summary

There are two main reasons for our concern for contaminants in our environment. One reason is the risk of human exposure to contaminants through air, water and/or food. The second reason is based on a general concern for environmental deterioration through contamination by toxic substances. This paper presents methods that are used to monitor the biological effects of contaminants. Such effects can be identified at the level of populations or communities, through effects on individual organisms (bioassays) and/or through sublethal responses (biomarkers). In most cases it will be appropriate to use a suite of techniques, both chemical and biological, in resolving contaminant impacts in aquatic ecosystems. It is furthermore important that all analyses are of high quality. A pan-European project, BEQUALM, was recently initiated to assure the quality of biological effects

techniques. Although the knowledge of specific biomarkers is increasing, we still lack basic knowledge of mechanisms and how natural processes interact with contaminants in their effects on aquatic organisms.

Innledning

Også før det eksisterte mennesker på jorda ble vann- og landlevende organismer utsatt for giftige og skadelige stoffer i omgivelsene. Det er for eksempel høy belastning av toksiske metaller for dyr og planter i enkelte områder på grunn av naturlig høye nivåer av metallholdige mineraler i berggrunnen. Videre vil skogsbranner føre til dannelse og spredning av polysykliske aromatiske hydrokarboner (PAH). Bakterier, planter og dyr er imidlertid kan skje selv de viktigste naturlige kildene til gifter. Mange planter produserer giftige stoffer, noe som bidrar til å hindre at de blir spist, og noen av disse stoffene kan til og med gi sterilitet eller redusert fruktbarhet hos plante-eterne. Også mange dyr produserer giftige stoffer. Noen dyr har gift til beskyttelse mot rovdyr, mens andre benytter giften som middel til selv å skaffe seg føde, slik som slanger og brennmaneter.

De økologiske effektene av slike naturlige belastninger er imidlertid små sammenlignet med tilførselene av miljøgifter fra menneskelig aktivitet. I mange sammenhenger kan det være snakk om mobilisering av naturlige stoffer, slik som metaller fra gruvedrift eller hormonlignende stoffer fra trevirke. Noen av de mest alvorlige miljøproblemene forårsakes imidlertid av

stoffer som ikke finnes naturlig, slik som klorerte bifenyler (PCB), dioksiner, andre halogenerte miljøgifter og plantevernmidler.

Det er vel særlig to årsaker til at vi er bekymret for miljøgifter i naturen. Den ene årsaken er at vi vil unngå at vi selv får i oss miljøgifter gjennom høsting av naturlige ressurser, altså en bekymring knyttet til spiseligheten av dyr eller planter. Den andre årsaken er en bekymring for at organismer dør eller at noe av naturen blir ødelagt. Slik bekymring for skader i naturen kan være tuffet på ulike grunnlag. Det kan være etiske grunner, gitt ved at vi ikke vil skade andre organismer eller ødelegge deres levegrunnlag, eller det kan være et ressurs-økonomisk resonnement knyttet til bekymring for reduserte bestander og derved mindre grunnlag for høsting.

For å overvåke spiselighet vil en vanligvis samle inn et antall prøver av den aktuelle arten som så analyseres for mengden miljøgift. Det finnes metoder til å beregne hvor mange prøver som er påkrevd i forhold til ønsket utsagnskraft og dette vil ikke bli diskutert videre her. Det er imidlertid en økende interesse for om og hvordan miljøgifter påvirker enkeltorganismer, populasjoner og økosystem. Til tross for at dette temaet har vært gjenstand for forskning i over 50 år er det fremdeles store kunnskapshull og en er langt fra forståelse av effekt-ene av selv enkelte miljøgifter, for ikke å nevne interaksjoner mellom miljøgifter.

Målet med denne artikkelen er å gi en innsikt i metoder som er i bruk til å overvåke effekter av miljøgifter, hvor-

dan de har vært brukt, hvor godt de eger seg til formålet og hvordan de kan tenkes å utvikles til fullverdige overvåkingsverktøy. Det vil bli lagt særlig vekt på metoder som gir et mål for helsetilstanden til enkeltindivider, såkalte biomarkører.

Kan vi oppdage effekter av miljøgifter?

Det er ingen tvil om at både ferskvann og havet kontinuerlig tilføres store mengder av ulike fremmedstoffer. For noen av disse stoffene er det kjent at de er giftige eller hormonforstyrrende for fugl eller fisk. Selv for de mest kjente miljøgiftene er det imidlertid begrensede kunnskaper om eventuelle effekter på virvelløse dyr. Det er også begrensede kunnskaper om hvordan fremmedstoffer interagerer med andre egenskaper ved miljøet, slik som mengden organisk materiale, fødetilgangen, temperaturen eller årstiden.

I de fleste eksemplene på betydelige effekter av miljøgifter har "offeret" vært en fugl, en amfibie eller et pattedyr. Dette er organismer som er gjenstand for stor interesse av mange i befolkningen slik at eventuelle effekter raskt vil oppdages og få stor media-dekning. De mest kjente eksemplene er tynt eggeskall hos rovfugl, forårsaket av et nedbrytningsprodukt av plantevernmiddelet DDT, kjønnsforstyrrelser hos måker, alligatorer og skilpadder forårsaket ulike klorerte hormonforstyrrende stoffer (Fry, 1995; Guillette, Jr. et al. 1995) og effektene på reproduksjon hos Østersjø-sel (Olsson et al. 1994; Reijnders, 1986;

Reijnders and Brasseur, 1992). Et unntak er de åpenbare effektene av organiske tinnforbindelser på noen snegl. Også i dette tilfellet var det imidlertid svært "synlige" organismer som ble rammet: Purpursnegl (der hunnene ble hanner) er et sentralt rovdyr i tidevannssonen og østers (som fikk svært tykt skall) ble holdt i oppdrett (Bryan et al. 1986).

Det er imidlertid grunn til å tenke litt gjennom et scenario der en kjent eller ukjent miljøgift har en spesifikk effekt på en "usynlig" gruppe organismer, f.eks. arter som lever under tidevannssonen i havet. Slike effekter vil kunne føres svært langt, faktisk helt til utryddelse, uten at de nødvendigvis vil bli oppdaget. Slike scenarier har fått ny aktualitet med økende kunnskaper om de hormonforstyrrende egenskapene til fremmedstoffer. De spesifikke effektene av organiske tinnforbindelser på hormonbalansen hos snegl er foreløpig det beste eksempelet på at slike scenarier ikke bare er skrekkevinner.

Hvordan kvantifisere biologiske effekter?

Det vil ofte være vanskelig å skille eventuelle effekter av miljøgifter fra andre påvirkninger, naturlige eller menneskeskapte. En kan skille de tilgjengelige metodene i tre kategorier: Samfunn/populasjon, toksisitetstesting og biomarkører.

Metoder som måler påvirkning på sammensetningen av arter, antallet individer, alderssammensetning, produktivitet eller lignende hører til den før-

ste kategorien (Tabell 1 på neste side). Av de tilgjengelige metodene er det bunndyrsamfunn og effekter på reproduksjon hos fisk som anbefales brukt i overvåking (i det marine miljø). Disse metodene har stor økologisk relevans, men det er vanskelig (oftest umulig) å skille eventuelle effekter av miljøgifter fra effekter av andre miljøforhold.

Den andre kategorien, toksisitetstesting, omfatter metoder som innebærer at det tas prøver av den abiotiske delen av økosystemet som så testes i standardiserte tester ("bioassay" på engelsk). Metodene som er anbefalt for det marine miljø omfatter tester på helt sediment med sediment-levende organismer¹⁾ og tester på vannfraksjoner (vann, porevann, elutriat) med vannlevende organismer²⁾. Slike metoder egner seg godt for standardisering og er hovedkomponenter i de fleste vurderinger av enkeltkjemikalier og miljørisiko. Ulempen med disse metodene er at de ikke er særlig følsomme, både fordi det benyttes organismer som egner seg til å holdes under laboratorieforhold (og derfor er generelt tolerante) og fordi endepunktet i målingene som oftest er død eller immobilisering.

Den tredje kategorien, biomarkører, omfatter mange ulike metoder (Tabell 1). Felles for metodene er at de måler endringer i helsetilstanden til enkeltindivider. Biomarkører er generelt føl-

-
- ¹⁾ *Corophium*, *Echinocardium*, *Arenicola*, *Leptocheirus*, *Grandidierella*, *Rhepoxinus*, *Ampelisca*.
²⁾ Mange alternativer, deriblant *Dinophilus*, befruktning av kråkebolleegg, muslinglarver, *Microtox*

somme, mange er relativt spesifikke for enkeltstoffer eller grupper av miljøgifter og metodene kan standardiseres. Svakheten til disse metodene er at de fleste bare i begrenset grad kan knyttes til effekter på populasjon, samfunn eller økosystem. Det er altså mulig å få et svar på om organismen er påvirket av en eller flere miljøgifter, men det er vanskelig å ekstrapolere til at dette individet vil dø eller få færre avkom.

Overvåking av biologiske effekter

Valget av metoder vil bestemmes av målet med en undersøkelse. Det er viktig å være oppmerksom på at det vil være behov for både kjemiske og biologiske analyser i de fleste miljøgiftstudier, men en undersøkelse må fokuseres ulikt om målet er nivåer eller effekter. For noen miljøgifter vil det imidlertid være uinteressant å måle konsentrasjoner, enten fordi stoffet er aktivt ved svært lave konsentrasjoner (mange hormonforstyrrende stoffer), det brytes raskt ned eller metaboliseres effektivt etter å ha hatt effekt (organofosfater, PAH-forbindelser).

Det er lett å tenke seg noen scenarier som hver vil kreve egne strategier. Et scenario kan være en situasjon med et begrenset område (fjord, innsjø) uten kjente punktkilder, men med mulig diffus belastning. Et annet scenario vil være et fjordområde med mange kilder der en vil ha avklart hvilke av disse, om noen, har negative effekter på økosystemet. Et tredje scenario er et område med en kjent kilde og noe kunn-

Tabell 1.

Metoder foreslått av ICES' arbeidsgruppe for biologiske effekter av miljøgifter (1997). Metoder som er uthevet er anbefalt i marin overvåking, øvrige er klassifisert som "lovende".

nivå	type metode	organisme(r)
samfunn/ populasjon	bunndyrsamfunn reproduktiv suksess hos fisk PICT* <i>fiskelarve/-embryo (abnormaliteter) allometrisk respons i bunndyr- samfunn</i>	- ålekva - <i>fiskelarver</i> -
toksisitetstester	sediment porevann, elutriat, vann <i>kronisk sediment test</i>	sediment-levende organismer vann-levende organismer evertebrater
biomarkører	cytokrom P4501A aktivitet vekstpotensiale (scope for growth) DNA addukter metallotionin membranstabilitet AChE hemming vitellogenin imposex, intersex lever neoplasia (kreft) ALA-D** hemming antioksidant enzymer fluorescerende galle- metabolitter <i>glutation S-transferase brudd i DNA/Comet redusert immunforsvar onkogener endrede foci MDR/MXR***</i>	fisk blåskjell fisk fisk musling, fisk virvelløse dyr, fisk fisk snegl fisk fisk fisk (virvelløse dyr) fisk <i>virvelløse dyr, fisk</i> <i>virvelløse dyr, fisk</i> <i>fisk</i> <i>fisk</i> <i>fisk</i> <i>virvelløse dyr (fisk)</i>

*pollution-induced community tolerance; **δ-aminolevulinsyre dehydratase; ***multidrug resistance

skap om biologiske effekter, men en vil ha kunnskaper om hvor alvorlige disse effektene er.

I det første scenariet vil en ønske å benytte metoder som er følsomme, men ikke veldig miljøgift-spesifikke (en ønsker å fange opp "alt"). En vil da gjøre et valg fra metoder som membran-stabilitet (fisk, musling), vekstpotensiale hos musling og cytokrom P4501A aktivitet i fisk. De to første biomarkør-ene vil kunne gi respons på flere klasser miljøgifter (metaller, klororganiske, PAH, tinnorganiske), mens den siste er svært følsom for plane organiske miljøgifter (PAH-er, dioksiner, noen PCB-er). Ved mistanke om miljøøstrogener vil en kanskje inkludere vitellogenin hos fisk. Hvis noen av disse metodene gir utslag, vil dette følges opp med mer spesifikke metoder og med kjemiske analyser.

I det andre scenariet vil det være påkrevd med en nær kobling mellom kjemiske og biologiske parametre. En vil her ønske å bruke noen biomarkører som er relativt miljøgift-spesifikke, slik som metallothionein (Cu, Zn, Cd, Hg), ALA-D (Pb), vitellogenin (miljøøstrogener), AChE (organofosfater), imposex/intersex (TBT) og/eller cytokrom P4501A (plane organiske miljøgifter). I tillegg bør det gjøres analyser av utvalgte miljøgifter i vev og sediment, samt av PAH-metabolitter i galle (hvis PAH er antatt å være et av problemene).

I det tredje scenariet vil valget av metoder i noen grad avhenge av hvilken eller hvilke miljøgifter som er antatt å være problemet. I en slik situasjon vil

en velge et spekter av metoder som belyser ulike sider av hvordan miljøgift-belastningen har påvirket økosystemet. Et eksempel på en slik strategi kan hentes fra den omfattende overvåkingen av flatfisk fra forurensede kystområder i USA. I resultatene fra denne overvåkingen kan det knyttes en sammenheng mellom høye nivåer av PAH i miljøet (sediment) til tilstedeværelse av metabolitter i galle, forhøyd aktivitet av enzymsystemet cytokrom P4501A, økt skade på DNA (fra PAH) til økt frekvens av leverkreft hos fisk med de andre symptomene (Casillas et al. 1991; Johnson et al. 1993; Stein et al. 1993). Nyere studier har pekt på at disse skadene også har potensiale i seg til å påvirke rekruttering i en populasjon av den aktuelle arten. Et annet viktig resultat fra disse undersøkelsene var at det var store artsforskjeller og at noen arter var mye mer utsatt for denne type skade enn andre. I en mindre skala har vi også i Norge benyttet oss av en slik flerdelt strategi i undersøkelse av effekter av PAH fra smelteverksindustri. I det arbeidet ble det koblet sammen fordeling og spredning av PAH, effekter på fisk (PAH-metabolitter, cytokrom P4501A aktivitet, DNA skader), biomarkør-responser hos bunndyr, bioakkumulering hos bunndyr og endringer i bunndyr-samfunnet (Næs et al. 1999).

Interkalibrering og kvalitetssikring

For at metoder til å kvantifisere biologiske effekter av forurensning skal kunne benyttes i nasjonale eller inter-

nasjonale programmer er det påkrevd at målingene har jevn kvalitet og reproduserbarhet. Dette kan bare oppnås gjennom gjentatte interkalibreringer mellom laboratorier som utfører en gitt måling og gode rutiner for kvalitetssikring internt hos hvert laboratorium.

Slik interkalibrering har vært gjennomført under programmet QUASIMEME for kjemiske målinger, men

det har ikke eksistert noe tilsvarende for biologiske metoder. Det er imidlertid noen unntak – det har vært utført begrensede interkalibreringsøvelser for noen biomarkør-metoder, deriblant EROD og vekstpotensiale, og en interkalibrering/kvalitetssikrings-komponent har vært inkludert i noen internasjonale programmer, slik som MEDPOL. I slutten av 1998 ble det imidlertid etablert et EU-finansiert prosjekt

Tabell 2. Metoder som er inkludert i prosjektet BEQUALM, institusjoner som er involvert og kontaktpersoner.

metode	ansvarlig institusjon	kontaktperson(er)
koordinator toksisitetstester	CEFAS, Burnham-on-Crouch, England	Peter Matthiessen John Thain
metallotionin ALA-D	NIVA, Oslo, Norge	artikkelforfatteren
DNA addukter	Universitetet i Stockholm, Stockholm, Sverige	Lennart Balk
bunndyr- analyser	Meeresforschung, Kiel, Tyskland	Heye Rumohr
histopatologi (fisk)	CEFAS, Weymouth, England	Steve Feist
cytokrom P4501A aktivitet imposex	SOAFD, Aberdeen, Skottland	Ian Davies
lysosomal stabilitet	PML, Plymouth, England	David Lowe
reproduksjon - ålekvalbe	Kustfiskelaboratoriet, Öregrund, Sverige	Olof Sandström
fytoplankton	Christian Albrechts Universität, Kiel, Tyskland	Fransiscus Colijn

som vil dekke noen av de mest benyttede metodene for biologiske effekter, BEQUALM (Biological Effects QUALity assurance in Monitoring programmes). Dette programmet omfatter interkalibrering og kvalitetssikring av anbefalte metoder som er anbefalt og benyttes til overvåking av biologiske effekter av forurensning (Tabell 2). Det er et stort behov for slike initiativ, ikke minst for å sikre at det skal være mulig å sammenholde resultater fra ulike laboratorier og land.

Kunnskapshull og konklusjoner

Som det vil framgå av ovenstående er vi langt fra en fullstendig oversikt over hvordan mennesket påvirker naturen. Vi må nok også innrømme at de overvåkingsverktøy vi har til rådighet kanskje ikke alltid fyller de behov vi har. Framfor å si at vi må ha mer kunnskaper om alt, er det imidlertid mulig å foreslå noen områder for framtidig forskning. Framfor alt er det viktig å huske på at naturen er kompleks. Vi kan ikke forvente å kunne gjengi forstyrrelser av naturen med få, enkle parametre. Det er derfor viktig å se helhetlig på forurensningsproblemer og anvende de beste av tilgjengelige metoder i hver situasjon. Når det gjelder bruk av biomarkører kan dette sees på som en analogi til at en lege suller en diagnose for en menneskelig pasient. Legen trekker da kanskje sine konklusjoner med utgangspunkt i konsentrasjoner av enzymer i blodet, tilstedeværelsen av metabolitter i urin og det generelle utseendet av pasienten. Ulempen med å

diagnostisere fisk eller børstemark er naturligvis at de ikke kan formidle hvordan de føler seg. Bruk av biomarkører må imidlertid, som nevnt ovenfor, integreres i en strategi der også andre biologiske og kjemiske metoder er inkludert. Det er imidlertid behov for mer dyptpløyende kunnskap om mekanismene bak eventuelle skader og hvordan de observerte effektene påvirker naturlige prosesser.

Et annet område der vi fremdeles har lite kunnskaper er hvordan hele miljøet samvirker i sin påvirkning. En miljøgift vil kunne ha en helt annen effekt i miljøet hvis det samtidig er mye alger i vannet, som det ofte vil være hvis resipienten har et eutrofiprobem i tillegg til miljøgift-problem (se f.eks. Hylland et al. 1997). Det er også en kjent sak at hunnfisk generelt er langt mer følsomme for miljøgiftbelastning nær gytetidspunktet enn de er til andre tider på året. Temperatur og sesongvariasjoner er andre viktige faktorer som er særlig viktige for land som Norge, der miljøforholdene kan endre seg dramatisk på få dager eller uker.

For å konkludere med de viktigste momentene: Det finnes ikke en enkelt metode som vil kunne gi svar i alle situasjoner og det er som oftest nødvendig å benytte flere komplementære metoder for å kunne vurdere økologiske effekter av miljøgifter. I de fleste tilfeller vil det være nødvendig å integrere kjemiske og biologiske metoder i miljøgift-overvåking for å kunne få tilstrekkelig kunnskap om årsak og effekt. Vi mangler fremdeles kunnskap om naturlige prosesser og hvordan miljøet på-

virker effekter av miljøgifter. I de se- neste 5-10 år har det imidlertid vært en rask utvikling i bruk av ulike metoder innen overvåking. Økt kvalitet av ana- lyser, helhetlig bruk av tilgjengelige metoder og forbedrede metoder vil gjøre oss bedre i stand til å vurdere ska- der av miljøgifter i fremtiden.

Referanser

- Bryan, G.W., Gibbs, P.E., Hummers- tone, L.G. and Burt, G.R. (1986) The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south- west England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. *J.mar.biol.Ass.U.K.* 66, 611-640.
- Casillas, E., Misitano, D., Johnson, L.L., Rhodes, L.D., Collier, T.K., Stein, J.E., McCain, B.B. and Varanasi, U. (1991) Inducibility of spawning and reproductive success of female English sole (*Parophrys vetulus*) from urban and nonurban areas of Puget Sound, Washington. *Mar.environ.Res.* 31, 99-122.
- Fry, D.M. (1995) Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. *Environ.Health Perspect.* 103, supplement 7, 165-172.
- Guillette, L.J., Jr., Crain, D.A., Rooney, A.A. and Pickford, D.B. (1995) Organization versus activation: the role of endocrine- disrupting chemicals (EDCs) during embryonic development in wildlife. *Environ.Health Perspect.* 103, supplement 7, 157-164.
- Hylland, K., Sköld, M., Gunnarsson, J. and Skei, J. (1997) Interactions between eutrophication and contaminants. IV. Effects on sedi- ment-dwelling organisms. *Mar.Pollut.Bull.* 33, 90-99.
- ICES (1997) Report of the working group on biological effects of contaminants. ICES CM 1997/Env: 5. Ref.E, 37 s.
- Johnson, L., Casillas, E., Sol, S., Collier, T.K., Stein, J.E. and Varanasi, U. (1993) Contaminant effects on reproductive success in selected benthic fish. *Mar.environ.Res.* 35, 165-170.
- Næs, K., Hylland, K. and Oug, E. (1999) Accumulation and effects of aluminium smelter generated PAHs in soft bottom invertebrates and fish. *Environ. Toxicol. Chem.* (i trykk)
- Olsson, M., Karlsson, B. and Ahnland, E. (1994) Diseases and enviromental contaminants in seals from the Baltic and the Swedish west coast. *Sci.total Environ.* 154, 217-227.
- Reijnders, P. (1986) Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. *Nature* 324, 456-457.
- Reijnders, P. and Brasseur, S.M.J.M. (1992) Xenobiotic induced hormonal and associated developmental

disorders in marine organisms and related effects in humans: an overview. I: Colborn, T. and Clement, C., (Eds.) Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection, s. 159-174. Princeton, New Jersey: Princeton Scientific Publishing Co.

Stein, J.E., Collier, T.K., Reichert, W.L., Casillas, E., Hom, T. and Varanasi, U. (1993) Bioindicators of contaminant exposure and sublethal effects in benthic fish from Puget Sound, WA, USA. Mar.environ.Res. 35, 95-100.

Norsk Vannforening har fått hjemmeside på Internett

Norges Vassdrags- og Energidirektorat (NVE), har vært behjelpelig med å skaffe Norsk Vannforening en egen hjemmeside på Internett. Hjemmesiden nås ved å gå via NVEs hjemmeside. Adressen er:
<http://www.nve.no/vannforeningen>

Professor Jan Henning LÁbée-Lund, NVE, har arbeidet for at hjemmesidenn ble virkelighet. Synspunkter på hjemmesiden tar