

Hormonforstyrrende stoffer i det akvatiske miljø – 1. Stoffgrupper

Av Ole-Håkon Heier, Kjell-Arne Skagemo & Ketil Hylland

Ole-Håkon Heier er saksbehandler ved Næringsmiddeltilsynet for Sør-Østerdal (NTSØ),

Kjell-Arne Skagemo er inspektør ved Næringsmiddeltilsynet i Indre Østfold (NTIØ), Ketil Hylland er forsker ved Norsk institutt for vannforskning (NIVA) og professor ved NLH.

Sammendrag

Denne artikkelen er den første av tre artikler som tar for seg hormonforstyrrende stoffer i det akvatiske miljø med fokus på Norge. Artikkelen tar for seg de aktuelle stoffene, kilder til disse og konsentrasjoner i naturen, og påviste biologiske effekter. Hovedtyngden er lagt på effekter på fisk, både i ferskvann og saltvann. Som bakgrunn for artikkelen ligger en gjennomgang av litteratur vedrørende temaet, bestående av både norske og utenlandske rapporter og artikler.

Innledning

På slutten av 60-tallet ble det klart at noen typer av klororganiske stoffer og pesticider, deriblant DDT (diklor-difenyl-trikloretan), viste hormonforstyrrende effekter (Wiese & Kelce 1997). I løpet av 1990-tallet har det vist seg at antallet stoffer som er kjent for å være hormonforstyrrende, var mye større enn man først trodde. Det har også vist seg at problemer forårsaket av hormonforstyrrende stoffer

har vid utbredelse, både geografisk og biologisk. I tillegg er disse effektene mangeartede og kan påvirke mange viktige funksjoner hos organismer. Det er imidlertid fremdeles stor uklarhet omkring hvilke stoffer som har hormonforstyrrende effekter på fisk, hvor potente de ulike stoffene er og hvilke kilder det er til utslipp av slike stoffer (Hylland et al. 1999). Målet med denne artikkelen er å sammenfatte norske og utenlandske studier for å kunne oppsummere de viktigste stoffgruppene som har vist hormonforstyrrende effekter hos fisk.

Definisjoner

Et hormonforstyrrende stoff ("endocrine disrupting chemical") kan defineres som et eksternt tilført stoff, menneskeskapt eller naturlig forekommende, som kan etterligne hormoner og/eller påvirke normale nivåer av hormoner i blodet eller virkningen av disse hormonene, og dermed forstyrre fysiologiske prosesser som er hormonelt regulert (Ankley et al. 1998).

I mange sammenhenger har begrepet "hormonforstyrrende stoffer" kommet til å bety det samme som østrogenlignende stoffer, dvs. stoffer som etterligner østrogen (ett av flere steroider). Så langt har riktignok hovedtyngden av forskningen vært konsentrert rundt dette temaet, men det har vist seg at hormonforstyrrende effekter omfatter mye mer enn dette. Noen stoffer virker som anti-østrogener eller anti-androgener, mens andre er agonister/antagonister til østrogener. De kan også ha egenskaper som ikke har noen direkte relasjon til kjønnshormonene, men som har andre effekter på helse eller reproduksjon. I tillegg til kjønnshormoner finnes også andre hormoner som vil kunne påvirkes av eksternt tilførte kjemiske stoffer, slik som "stress-hormoner" (kortikosteroider) og de thyroide hormonene (Miyamoto og Klein 1998).

Historisk bakgrunn

De første oppdagelsene av hormonforstyrrende effekter skjedde allerede på 1930-tallet (Dodds & Lawson 1938). Det var imidlertid ikke før på 1960-tallet at det ble kjent at menneskeskapt stoffer kunne forstyrre reproduksjonen og utviklingen til organismer i naturen, for eksempel effekter av DDT hos fugler (referert av Fry 1995).

På 80-tallet begynte flere forskningsmiljøer å fatte interesse for dette fenomenet, og på 90-tallet har antallet utgitte vitenskapelige artikler på området økt eksponensielt for hvert år (Harries et al. 1997). Hormonforstyrrende effekter har blitt vist i

kontrollerte forsøk med pattedyr, fisk, reptiler, amfibier, fugler og virvelløse dyr ved eksponering for en mengde antropogene og naturlige stoffer (Ankley et al. 1998). Gode bevis finnes også for at potensielt uheldige effekter skjer i naturen på både individ- og populasjonsnivå, blant annet hos fisk (Purdom et al. 1994; Ankley et al. 1998; Jobling et al. 1998) (se artikkel 3 for mer om dette temaet) og alligatorer (Guillette et al. 1994).

Stoffgrupper

Et bredt utvalg av stoffer har vist seg å ha hormonforstyrrende effekter. I mange tilfeller har den hormonforstyrrende aktiviteten til disse kjemikaliene blitt oppdaget tilfeldig. Det finnes 60.000-100.000 menneskeskapt kjemikalier som er i daglig bruk, hvorav 3.000 står for 90% av den totale globale produksjonen. I tillegg kommer mellom 200 og 1.000 nye syntetiske stoffer hvert år, og ved nedbryting av stoffene i naturen dannes nye stoffer med ukjent virkning (Desbrow et al. 1998). Dermed er det sannsynlig at også andre, ennå ikke oppdagede, kjemikalier eller grupper av kjemikalier vil vise seg å inneha hormonforstyrrende aktivitet (Sumpter & Jobling 1995).

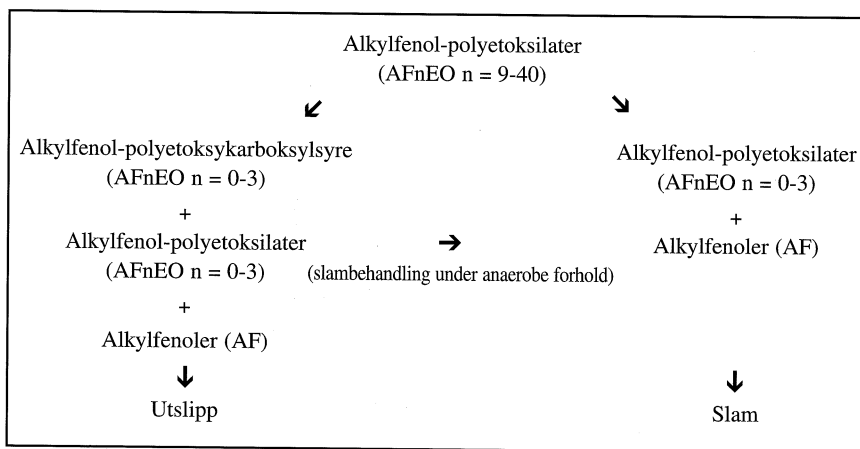
Alkylfenoler

Alkylfenoletoksilater (AFEO) er ikke-ioniske surfaktanter (overflateaktive stoffer uten ladning) (Ahel et al. 1994b; Toppari et al. 1996). Av den totale mengde alkylfenoletoksilater som brukes utgjør nonylfenoletoksilater (NFEO) omtrent 80% (White et al. 1994; Tyler & Routledge 1998),

mens mesteparten av de resterende 20% utgjøres av oktylfenoletoksilater (OFEO) (White et al. 1994). Mer enn 300.000 tonn AFEO ble produsert årlig over hele verden på 80- og 90-tallet (White et al. 1994; Jobling et al. 1996).

Bruksområdene til AFEO er mange, blant annet i vaskemidler, maling, plast, herbicider, pesticider og i tilknytning til papir- og trevareindu-strien, tekstilindus-trien og i produksjonen av kos-metikk, gummi, metall, lær og noen matprodukter (Nordic Council of Ministers 1996; Toppari et al. 1996; Tyler & Routledge 1998). NF og NFEO brukes som befruktningshindrende middel i sæddrepende kremer og lignende, til produksjon av bindemidler og herdere i vannbasert maling, lakk, lim og til en viss grad i produksjonen av visse plastprodukter med videre (Huse & Aas-Aune 1995; Toppari et al. 1996; Wiese & Kelce 1997).

Det har blitt beregnet at mer enn 60% av AFEO og alkylfenolene (AF) som produseres ender opp i det akvatiske miljøet, mesteparten via utslipp av avløpsvann, både renset og urenset. Selve AFEO brytes lett ned av mikroorganismer. Imidlertid er nedbrytingsproduktene AF, slik som nonylfenol (NF) og oktylfenol (OF), og/eller kortkjedede etoksilater, og karboksylsyrederivativer/alkylfenol karboksylsyrer (AFEC) (Ahel et al. 1994a; White et al. 1994; Jobling et al. 1996). Både de kortkjedede etoksi-latene, som dannes ved nedbryting av de langkjedede, og NF, er mer tok-siske enn de langkjedede. Nedbryting av NFEO vil altså føre til dannelse av langsomt nedbrytbare og mer toksiske stoffer. Disse kan videre adsorberes og akkumuleres. NF dannes spesielt under anaerobe forhold (Huse & Aas-Aune 1995).



Figur 2. Den biologiske nedbrytingen av AFEO under behandlingen av avløpsvann. Stoffene illustrert i figuren er til stede i avløpsvann og i ellevann utover i Europa og USA (etter Jobling & Sumpter 1993).

Alkylfenoler er lipofile, hydrofobe, relativt persistente og langsomt nedbrytbare (Ahel et al. 1994a; White et al. 1994; Jobling et al. 1996) og har en tendens til å bioakkumulere, spesielt i akvatiske organismer (Toppari et al. 1996; Jobling et al. 1996). AF har også blitt rapportert å akkumulere i avløpsslam og sedimenter (Ahel et al. 1994a; Ahel et al. 1994b; White et al. 1994). Videre har AF blitt funnet i målbare konsentrasjoner i elver, utslipp av avløpsvann, og til og med drikkevann (Ahel et al. 1994b; Jobling et al. 1996; Harries et al. 1997; Desbrow et al. 1998; Larsson et al. 1999). Konsentrasjonene som har blitt rapportert spenner fra nanogram til milligram per liter (Ahel et al. 1994b; Jobling et al. 1996). Konsentrasjoner av NF i vann i miljøet overstiger sjelden 10 (g/L, selv om noen spesielle steder kan ha langt høyere konsentrasjoner (Ahel et al. 1994b).

Det har blitt rapportert mange steder at alkylfenoler har en østrogenlignende virkning både *in vivo* og *in vitro* (blant annet White et al. 1994; Jobling et al. 1996; Heier & Skagemo, egne obs.), og det er en vel etablert oppfatning at de fleste langkjedede alkylfenoler har østrogen effekt.

Bisfenoler

Bisfenol A (BisA) (4,4'-metyletylenbisfenol) brukes i mange industrielle prosesser, fra plast til tannfyllinger. Bisfenoler er viktige kjemikalier i plastsektoren for produksjonen av polykarbonater, epoksyresiner, polyestere og polyakrylater. Stoffet brukes også i byggematerialer,

som et fremkallingsmiddel i fargestoffer og som tilsetning i overflatebelegg og termo-fakspapir. Bisfenol A brytes lett ned i vann, og viser kun en liten tendens til bioakkumulering (Nordic Council of Ministers 1996; Miyamoto & Klein 1998). Nordic Council of Ministers (1996) oppgir et årlig forbruk i Norge av BisA på cirka 30 tonn i 1995, og mener det er sannsynlig at stoffet kommer ut i miljøet i betydelige mengder.

Mange forfattere omtaler BisA som et stoff med hormonforstyrrende effekter, deriblant Mosland et al. (1996), Nordic Council of Ministers (1996) og Miyamoto & Klein (1998). Safe & Gaido (1998) og Tyler & Routledge (1998) hevder, i tillegg til for BA, at også stoffene bisfenol F og bisfenol AF har østrogenlignende effekter.

Sumpter & Jobling (1995) viste ved eksponering av leverceller fra ørret for BisA at vitellogenin (vtg)-produksjonen økte. Christiansen et al. (1998b) injiserte BisA i regnbueørret, og fikk øket vtg-produksjon som resultat (cirka 300x), et bevis på en østrogenlignende virkning *in vivo*.

Syntetiske østrogen

Stoffet dietylstilbestrol – DES (4,4'-dihydroksydietylstilben) ble utviklet som et legemiddel for å motvirke abort i kvinner. Etter hvert ble det også benyttet for en mengde forskjellige kliniske tilstander hos mennesker, og til å stimulere vekst i kveg. Stoffet ble brukt i stor stil fram til 1970-tallet. Det ble da påvist at stoffet hadde store negative virkninger på mannlig og kvinnelig reproduksjon, inkludert

misdannelse i kjønnsorganene og kreft. Etter dette har bruken av DES hos kvinner ikke uventet blitt svært begrenset (European Community 1999).

17 α -ethinyløstradiol (EE2) er det viktigste østrogener som brukes i p-piller (Purdom et al. 1994; Desbrow et al. 1998), selv om dets 2-metyl ester (Mestranol) noen ganger også benyttes (Purdom et al. 1994). EE2 er et svært potent syntetisk østrogen (Sumpter & Jobling 1995).

Det er mulig at noen syntetiske østrogener, spesielt nettopp EE2, kan forurense det akvatiske miljø (Sumpter & Jobling 1995). Imidlertid utskilles stoffet nesten fullstendig i konjugerte former fra kroppen. Disse vurderes som biologisk inaktive (Sumpter & Jobling 1995). Harries et al. (1997) hevder dermed at det vil kun være spekulasjoner hvor stor andel av effekten EE2 bidrar med i utslipp med østrogenlignende effekter, inntil man kan måle konsentrasjoner av stoffet i vannet med større sikkerhet og følsomhet. Studier av nedbrytingen i laboratorier indikerer imidlertid at EE2 er svært stabilt og persistent i aktivt slam, noe som delvis kan forklares ved at EE2 er 3 ganger mindre vannløselig enn naturlige steroidale østrogener (Desbrow et al. 1998). Se også neste kapittel (naturlige østrogener).

Purdom et al. (1994) viste at EE2 kan indukere vitellogenese i ørret, og at det er mye mer potent enn østradiol (E2). Dette viser at det er sannsynlig at p-piller kan ha betydning for den østrogenlignende effekten til avløpsvann. EE2 er i stand til å produsere en

vitellogenin (vtg)-respons i fisk ved konsentrasjoner så lave som 0.3 ng/L, og har blitt vurdert som en mulig delårsak til de østrogenlignende effektene man har sett hos fisk i engelske elver (Harries et al. 1996). Larsson *et al.* (1999) påviste effekter på regnbueørret eksponert for utslipp av avløpsvann (se nedenfor).

Naturlige østrogener

Naturlige hormoner er effektive ved meget lave konsentrasjoner (Miyamoto & Klein 1998). Naturlige østrogener fra mennesker og andre pattedyr, slik som østradiol (E2), østron (E1) og deres konjugater, blir utskilt i urin og faeces. Disse er derfor mulige bidragsyttere til den påviste østrogenlignende effekten til utslipp av avløpsvann (Larsson et al. 1999).

Både Desbrow et al. (1998), Harries et al. (1999) og Larsson et al. (1999) har påvist naturlige østrogener i avløpsvann. Larsson et al. (1999) fant at steroidene i utslipp av avløpsvann hovedsakelig var til stede i ukonjugert form. Mennesker skiller hovedsakelig ut naturlige østrogener og EE2 som konjugater. Resultatene indikerer derfor at dekonjugering (aktivering) skjer i avløpssystemet, og/eller at konjugatene brytes raskere ned. Denne teorien støttes også av Desbrow et al. (1998). Fisk (regnbueørret) som var satt ut i bur nedenfor utslippet viste konsentrasjoner av østrogener som var 10⁴-10⁶ ganger høyere enn konsentrasjonene i vannet, noe som viser at eksponering for stoffene fører til akkumulering og oppkonsentrering. Det skjedde også en intens økning i produksjonen av plasma vtg. Den rel-

ative effektiviteten til østrogenene til å indusere vitellogenese er $EE2 > E2 > E1$. Forfatterne kom til den konklusjonen at den viktigste årsaken til den østrogenlignende effekten til avløpsvannet, først og fremst lå i det høye nivået av EE2 i vannet.

Desbrow *et al.* (1998) isolerte og identifiserte de viktigste kjemikaliene som bidro til den østrogenlignende effekten til avløpsvann. Avløpsvannet kom fra 7 rensesanlegg i Storbritannia, og hadde sin hovedopprinnelse fra husholdninger. De naturlige hormonene E1 og E2 og det syntetiske hormonet EE2 var de viktigste bidragsyterne. E1 og E2 var tilstede i alle utslippene i konsentrasjoner fra 1 ng/L til henholdsvis nesten 50 og 80 ng/L. Konsentrasjonen av EE2 var generelt lavere enn deteksjonsgrensen, men ble positivt identifisert i tre av vannprøvene i konsentrasjoner fra 0.2-7.0 ng/L.

Disse resultatene indikerer at både naturlige og syntetiske hormoner kan være årsaken til den observerte induksjonen av vtg-syntese i fisk i noen elver i Storbritannia. Siden de undersøkte utslippene inneholdt lite eller ingen tilskudd fra landbruk (men fra rensesanlegg i urbane områder), antar forfatterne at de naturlige og syntetiske steroidene som ble funnet hadde menneskelig opprinnelse.

Fytoøstrogenener og mykotoksiner

Planter er kjent for å inneholde stoffer med svake østrogenlignende effekter. Stoffene kan være produsert av plantene selv (fytoøstrogenener) eller av sopp som vokser på/i planten (myko-

toksiner) (Mellanen *et al.* 1996; Toppari *et al.* 1996; Wiese & Kelce 1997). Fytoøstrogenener er for øvrig et ganske dårlig dekkende begrep, siden også andre hormonforstyrende effekter enn østrogenlignende har blitt påvist.

Tilstedeværelsen av store mengder fytoøstrogenener i planter som brukes til dyrefor og den negative effekten av stor eksponering av dyr for fytoøstrogenener har vært kjent i flere tiår. Flavonoider er antagelig den mest vidt utbredte gruppen av fytoøstrogenener. Flavonoider med østrogenlignende effekt omfatter blant annet isoflavonene, som finnes i høye konsentrasjoner i kløver og diverse soyaprodukter. I tillegg til isoflavonene viser andre strukturelle grupper av flavonoider østrogenlignende aktivitet, deriblant flavoner, flavanoner og chalconer. Daidzein, kaempferol, naringenin og phloretin er representative eksempler på stoffer fra henholdsvis isoflavoner, flavoner, flavanoner og chalconer. Coumesterol er et flavonoid-derivert stoff som er et av de mest potente østrogenene i planter (Safe & Gaido 1998).

Lignanener er en gruppe stoffer som er mulige fytoøstrogenener (Safe & Gaido 1998). De er fenoliske stoffer som finnes i trær. Plantesteroler, slik som β -sitosterol, viser også østrogenlignende aktivitet. Terpenoider, slik som sitosteroler, er en stor gruppe stoffer som også finnes i trær. Betulin, også kalt betulinol og faktisk strukturelt nært sitosteroler, finnes i de ytterste barklagene hos bjørk (*Betula*) og er et potensielt østrogen. Relativt store mengder stilbener har blitt fun-

net i bartrær, hovedsakelig i barken og barnålene (Mellanen et al. 1996). Alle de sistnevnte stoffgruppene er mistenkt å inneha hormonforstyrrende effekter.

Fyto- og mykoøstrogen brytes sannsynligvis lett ned og skilles ut av organismer. De synes heller ikke å være persistente eller bioakkumulerbare (Toppari et al. 1996; Miyamoto & Klein 1998). Sammenlignet med østradiol (E2) er de fleste fytoøstrogen og mykotoksiner relativt inaktive. Imidlertid er det mulig at effektene av flere stoffer sammen kan virke additivt, og dermed nå nivåer som kan påvirke reproduktive parametre hos organismer (Wiese & Kelce 1997).

Det synes å være relativt få undersøkelser som har undersøkt effektene av fyto- og mykoøstrogen på fisk *in vivo* eller *in vitro*. Flere fytoøstrogen (daidzein, biochanin A, genistein, equol, coumestrol) har blitt funnet å ha østrogenlignende aktivitet etter injeksjon i sibirsk stør (Pelissero et al. 1991) eller i kulturer av leverceller fra regnbueørret (Pelissero et al. 1993).

I teorien kan østrogenlignende stoffer fra tre som finnes i avløpsvann fra papir- og trevareindustri påvirke det reproduktive systemet hos fisk. Disse fytoøstrogenene har imidlertid ikke blitt funnet i trær som er i vanlig bruk i tre- og papirindustrien (Mellanen et al. 1996). Flere undersøkelser har allikevel vist at fisk som er eksponert for avløpsvann fra papir- og treindustri viser reduserte mengder av kjønns hormoner i blodet, redusert egg- og gonadestørrelse, etc. (Howell & Denton 1989; Munkittrick et al. 1998; Mellanen et al. 1996). Mellanen

et al. (1996) viste at β -sitosterol hadde østrogenlignende effekter *in vivo* hos regnbueørret. I tillegg til (-sitosterol, viste flere andre tre-deriverte stoffer østrogenlignende effekt *in vitro* i brystkreftceller. Howell & Denton (1989) eksponerte moskitofisk (*Gambusia affinis*) i USA for nedbrytingsprodukter (antageligvis steroider) av plantesterolet stigmasterol. Det skjedde en maskulinisering av hunnfisken som ble indikert av dannelsen av gonadopodier (finner hos hannfisken som har en funksjon i tilknytning til forplantningen). Plantesterolet stigmasterol slippes ut fra treforedlingsbedrifter.

Pesticider og deres nedbrytingsprodukter

Svært mange av pesticidene som har blitt påvist å vise hormonforstyrrende effekter er klororganiske (Fernandez et al. 1998), dvs. organiske forbindelser som inneholder flere kloratomer. Generelt varierer pesticiders kjemiske struktur og spesifikke virkningstyper stort, og dermed også de hormonforstyrrende egenskapene. Mange kilder oppgir at pesticider og deres nedbrytingsprodukter gir eller kan gi hormonforstyrrende effekter, både *in vitro* og *in vivo*. Det er imidlertid ikke mange undersøkelser som har hatt som hovedmål å undersøke effekter av et bestemt eller flere pesticider.

Klororganiske pesticider har blitt brukt i stor skala i mange land i verden. DDT (diklordifenyl trikloretan) er et klassisk eksempel på et hormonforstyrrende stoff. DDT ble forbudt brukt i industrialiserte land for

noen år siden (Fernandez et al. 1998). En del av stoffene brukes imidlertid fremdeles i utviklingsland (Safe & Gaido 1998). Klororganiske pesticider er svært lipofile og stabile, og bioakkumulerer og biomagnifiserer i økosystemer som følge av dette, noe som gjør at de finnes i miljøet i titalls år etter at de har blitt brukt (Safe & Gaido 1998).

Insekticider kan også inneholde andre stoffer som er kjent for å gi hormonforstyrrelser hos organismer. Insekticidet Matacil 1.8D inneholdt karbamat-insekticidet aminocarb, som igjen inneholdt 4-nonylfenol (et alkylfenol- se over) som det primære løsemiddelet. Dette stoffet ble brukt til sprøyting av nordamerikanske skoger i stor skala på 1970- og 80-tallet (se nedenfor) (Fairchild et al. 1999).

Det er ved mange tilfeller registrert sammenhenger mellom nedgang i fertilitet og vekst hos fugl eller reptiler og bruk av organoklorerte pesticider. Det er flere godt kjente eksempler på en sterk årsakssammenheng mellom forurensning av DDT og dets nedbrytingsprodukter og redusert reproduksjonssuksess hos hvithodeørn (*Haliaeetus leucocephalus*) ved Great Lakes i Canada (Bowerman et al. 1995) og hos alligatorer (*Alligator mississippiensis*) i Lake Apopka (Guillette et al. 1994).

Det synes imidlertid som om at det ikke er så mange undersøkelser som har tatt for seg pesticider og hormonforstyrrende effekter i fisk. Donohoe & Curtis (1996) fant indikasjoner på at stoffene chlorodecone, o,p'-DDT og o,p'-DDE hadde en svakt østrogen-

lignende effekt in vivo i ung regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*). I et forsøk av Chakravorty et al. (1992) ble det vist at endosulfan fører til en drastisk reduksjon i konsentrasjonen av plasma vtg i fiskearten *Clarias batrachus*. Fairchild et al. (1999) viste at det var en sammenheng mellom laksefangstene i elvene og bruken av kjemikalier. Denison et al. (1981) identifiserte et vitellogenin-lignende protein i moskitofisk (*Gambusia affinis*) som hadde blitt eksponert for DDT. Xenøstrogener kan dermed også indusere dannelsen av slike proteiner i ikke-kjønnsmoden fisk.

PCB (polyklorerte bifenyler)

PCB er industrielle kjemikalier som har blitt brukt siden 1929 i dielektriske væsker for transformatorer, kondensatorer, flammeretardenter, kjølevæsker, hydrauliske væsker, klebemidler etc.. PCB er representert ved 209 beslektede strukturer (kongenere). Generelt er de svært stabile stoffer som kan akkumulere og viser høy persistens i biologiske systemer. De biologiske effektene varierer mellom de forskjellige kongenere. Det finnes i tillegg en rekke forskjellige nedbrytingsprodukter. I de fleste vestlige nasjoner ble bruken av stoffet forbudt på 1970-tallet. Det ble imidlertid produsert store mengder PCB før forbudet, og en stor andel av dette finnes fremdeles i miljøet på grunn av bioakkumulering og liten nedbryting (Safe & Gaido 1998).

Det er delte meninger om og eventuelt hvordan og i hvor stor grad PCB og relaterte forbindelser innehar hormonforstyrrende effekter. Blant

annet følgende kilder oppgir i en eller annen sammenheng PCB eller dets nedbrytingsprodukter som stoffer med slike effekter; Mosland *et al.* (1996), Wiese & Kelce (1997), Fernandez *et al.* (1998) og Safe & Gaido (1998). Vi har imidlertid funnet få undersøkelser som har vurdert østrogenlignende effekter av PCB på fisk.

Chen & Sonstegard (1984) påviste en reduksjon i produksjonen av plasma vitellogenin (vtg) hos ung regnbueørret som hadde blitt gitt for som inneholdt PCB. Thomas (1989) ga fisk for som inneholdt en PCB-blanding over 17 dager. Resultatet var at veksten av ovariene ble redusert, konsentrasjonene av plasma østradiol (E2) sank, og det ble påvist en reduksjon i spontan utskillelse av gonadotropin (GTH) *in vitro* fra hypofysen til PCB-behandlet fisk. Monosson *et al.* (1994) knyttet reproduksjonsforstyrrelser som har sammenheng med PCB-eksponering i naturlige fiskepopulasjoner sammen med flere parametre, slik som redusert GSI (gonadosomatisk indeks) eller undertrykt gonadevekst, senkede konsentrasjoner av østrogen, E2, testosteron og vtg i blodplasma hos eksponert fisk, og redusert overlevelse av egg og larver. Casillas *et al.* (1991) fant indikasjoner på at flyndre fra områder med PCB-forurensede sedimenter hadde lavere gytesuksess enn flyndre fra steder med sedimenter uten kontaminering.

Ftalater

Ftalater er en stor gruppe kjemikalier i vid bruk i hele verden som mykgjørere i produksjonen av plast. Som en konsekvens av dette er noen fta-

later blant de mest vanlige akvatiske mikroforurensningene. Bruken av fta- later i produksjonen av plast i kontakt med mat har imidlertid blitt redusert i de senere årene (Nordic Council of Ministers 1996; Toppari *et al.* 1996; Fernandez *et al.* 1998; Miyamoto & Klein 1998).

De kommersielt viktige ftalatene har fra ett til elleve karbonatomer i sidekjedene. Stoffene er lite flyktige og svært tungt løselige i vann. Flyktighet og løselighet avtar med økende kjedelengde (Huse & Aas-Aune 1995). Ved bruk som mykgjørere, bindes de ikke kjemisk til produktet, og kan dermed lekke ut til det omgivende miljøet og bli tilgjengelig for opptak i organismer (Toppari *et al.* 1996; Harris *et al.* 1997). Dioktylftalatene (DOP) er de viktigste, med dietylheksylftalat (DEHP) som den dominerende isomeren (Huse & Aas-Aune 1995; Toppari *et al.* 1996). Kortkjedete ftalater med ett til fire karbon i sidekjeden brukes som mykgjørere i maling, lim, sparkel, fugemasser osv. Mindre bruksområder er som dielektrisk medium i kondensatorer, denatureringsmiddel i sprit som brukes i kosmetikkprodukter, samt tilsetningsstoff i baktericider og fungicider (Huse & Aas-Aune 1995).

Ftalater er generelt lite akutt toksiske og nedbrytes raskt i de fleste organismer. De publiserte dataene tilsier at det er ftalater med 4-8 karbon i sidekjeden (kortkjedete) som er mest miljøskadelige, på grunnlag av toksisitet overfor vannlevende organismer, bionedbrytbarhet og potensiale for bioakkumulering (Huse & Aas-

Aune 1995). Det norske forbruket av butylbenzylftalat (BBP) og di-*n*-butylftalat (DBP) ble anslått å være henholdsvis 9 og 78 tonn i 1995. Tallene er imidlertid usikre (Nordic Council of Ministers 1996).

Om ftalatenes kan gi hormonforstyrrende effekter har blitt mye diskutert. Dette er undersøkt *in vitro* og *in vivo*. Harris et al. (1997) undersøkte de østrogenlignende egenskapene til en rekke ftalater *in vitro* i en gjærkultur. Et lite antall av de kommersielt tilgjengelige ftalatenes viste en ekstremt svak østrogenlignende aktivitet. De mener at med tanke på østrogenlignende effekter, synes det å være to typer ftalater som trenger videre undersøkelser, nemlig 1) de kortkjededede ftalatenes, det vil si BBP, DBP og diisobutylftalat (DIBP), som brukes i industrien i mindre kvanta, men har en sterkere østrogenlignende effekt, og 2) det langkjededede ftalatenes diisononylftalat (DINP), som, selv om det viser en ekstremt svak østrogenlignende effekt *in vitro*, brukes i store kvanta. Jobling et al. (1995) utførte undersøkelser *in vitro* med kulturer av celler fra leveren til regnbueørret. Disse viste at noen ftalater (DEHP, DBP, BBP) kunne hemme bindingen av østradiol til østrogenreseptoren. Noen data tyder på at enkelte ftalater har andre effekter enn østrogenlignende. Et eksempel er BBP som er et sterkt anti-androgen *in vitro* (Sohoni & Sumpter, 1998). Dette viser at det er behov for mer kunnskap før en kan trekke de endelige konklusjonene omkring de eventuelle hormonforstyrrende egenskapene til et stoff.

Dioksiner og furaner

Polyklorerte dibenzo-*p*-dioksiner (PCDD) og polyklorerte dibenzofuraner (PCDF) er miljø-persistente og svært bioakkumulerbare stoffer, og det finnes henholdsvis 75 og 135 kongener. Den mest giftige kongeneren er 2,3,7,8-tetraklorert dibenzo-*p*-dioksin (TCDD), vanligvis referert til som dioksin. Disse stoffene dannes som uønskede biprodukter ved produksjonen av klorerte hydrokarboner. Andre kilder er forbrenningsprosesser, papirblekingsprosesser og utslipp fra jernstøperier og motorkjøretøy (Toppari et al. 1996).

De fleste undersøkelsene på miljøeffekter av dioksiner og furaner har blitt utført med 2,3,7,8-TCDD (Toppari et al. 1996). Det finnes imidlertid store mengder biokjemiske og toksiske data også for ulike PCDD og PCDF. Både Toppari et al. (1996) og Miyamoto & Klein (1998) viser til eksempler hvor TCDD har vist hormonforstyrrende effekter på pattedyr.

Det synes imidlertid som om det har blitt utført lite forskning på de eventuelt hormonforstyrrende effektene av disse stoffene på fisk. Det har ikke lyktes oss å finne noen artikler som tar for seg forsøk for å undersøke dette. Det er imidlertid referanser som hevder at dioksiner kan gi hormonforstyrrende effekter på fisk, deriblant bl.a. Monosson et al. (1994) og Sumpter & Jobling (1995).

Tributyltinn-forbindelser

Tributyltinn (TBT) har blitt brukt i store mengder som biocid i maling til båter for å hindre påvekstorganismer.

Dette har imidlertid ført til maskulinisering av hunnsnegler i mange lokale populasjoner over hele verden (European Community 1999). Bruken er nå regulert i de fleste land og nypåføring vil trolig bli forbudt på skip fra 2003. Organiske tinnforbindelser brukes også som biocider i vannrense- og avsaltingsanlegg og som fungicid i treimpregnering (Miyamoto & Klein 1998).

Det er godt kjent at TBT gir skadelige effekter på flere slags organismer.

Andre stoffer

Det virker uklart om PAH-eksponering kan gi hormonforstyrrende effekter, men lite forskning synes å ha blitt utført for nærmere å undersøke dette. Både Thomas (1989) og Casillas et al. (1991) fant indikasjoner på at det er en sammenheng mellom reproduksjonsproblemer hos marin fisk fra kystområder og forurensninger av PCB og PAH.

Det har også blitt rapportert at flere tungmetaller kan føre til uheldige effekter på reproduksjonen hos mennesker og dyr. Blant annet henviser Kime (1999) til egne undersøkelser, hvor det har blitt vist at kadmium (Cd) hadde en negativ effekt på kjønnscelegene hos hannfisk. Thomas (1989) viste at fiskearten "Atlantic croaker" (*Micropogonias undulatus*) fikk økte nivåer av østrogen og gonadotropin i blodet, og også økt vekst av ovariene ved eksponering for Cd. Thomas (1989) omtaler også en annen undersøkelse han har utført hvor "Atlantic croaker" ble eksponert for bly (Pb). Fisken fikk reduserte nivåer av hormoner i plasma, utskillelse av hor-

moner av ovariene og vekst av ovariene. Pereira et al. (1993) fant at flyndre med forhøyde nivåer av Cd i leveren, hadde lavere nivåer av vitellogenin (vtg) i blodet og redusert GSI (gonadesomatisk indeks) og LSI (leversomatisk indeks).

Alkylparabener (alkyl hydroksybenzoater) er blant de nyeste stoffene som har blitt påvist å kunne gi hormonforstyrrende effekter *in vivo* i fisk. Disse stoffene finnes blant annet i både mat og kosmetikk (Pedersen et al. 2000). Pedersen et al. (2000) viste at de tre alkylparabenene etylparaben, propylparaben og butylparaben økte konsentrasjonen av plasma vtg i regnbueørret når stoffene ble injisert i fisken. Den østrogenlignende aktiviteten til parabener ble betraktelig redusert ettersom lengden på alkylkjeden ble kortere, og for nedbrytingsproduktet p-hydroksybenzosyre (ingen alkylkjede) var aktiviteten borte.

Det er flere stoffer som kun er nevnt en eller noen få ganger i litteraturen. Dette kan ha flere årsaker. Det kan være at de er lite undersøkt, at de i utgangspunktet ikke er ansett for å kunne vise hormonforstyrrende effekter eller at de brukes i små mengder eller i et lite omfang. Noen av disse kan nevnes avslutningsvis; Amsonic acid (4,4'-diaminostilben-2,2'-disulfon syre) (Fernandez et al. 1998), butylert hydroksyanisol (BHA) (Toppari et al. 1996; Fernandez et al. 1998), fenylfenol (Fernandez et al. 1998), hydrokarboner (Fry 1995) og Pentaklorfenol (PCP) (Toppari et al. 1996). Felles for disse er at vi ennå ikke vet hvilke hormonforstyrrende effekter de kan gi.

Litteratur

- Ahel, M., Giger, W. & Koch, M., 1994a. Behaviour of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment – I. Occurrence and Transformation in Sewage Treatment. *Water Research*, Vol. 28, No. 5, s. 1131-1142.
- Ahel, M., Giger, W. & Schaffner, C., 1994b. Behaviour of Alkylphenol Polyethoxylate Surfactants in the Aquatic Environment – II. Occurrence and Transformation in Rivers. *Water Research*, Vol. 28, No. 5, s. 1143-1152.
- Ankley, G., Mihaich, E., Stahl, R., Tillitt, D., Colborn, T., McMaster, S., Miller, R., Bantle, J., Campbell, P., Denslow, N., Dickerson, R., Folmar, L., Fry, M., Giesy, J., Gray, L. E., Guiney, P., Hutchinson, T., Kennedy, S., Kramer, V., LeBlanc, G., Mayes, M., Nimrod, A., Patino, R., Peterson, R., Purdy, R., Ringer, R., Thomas, P., Touart, L., van der Kraak, G. & Zacharewski, T., 1998. Overview of a Workshop on Screening Methods for detecting potential (Anti-) Estrogenic/androgenic Chemicals in Wildlife (Annual Review). *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 1, s. 68-87.
- Bowerman, W. W., Giesy, J. P., Best, D. A. & Kramer, V. J., 1995. A Review of Factors Affecting Productivity of Bald Eagles in the Great Lakes Region: Implications for Recovery. *Environmental Health Perspectives* 103 (Supplement 4): s. 51-59.
- Casillas, E., Misitano, D., Johnson, L. L., Rhodes, L. D., Collier, T. K., Stein, J. E., McCain, B. B. & Varanasi, U., 1991. Inducibility of Spawning and Reproductive Success of Female English Sole (*Parophrys vetulus*) from Urban and Nonurban Areas of Puget Sound, Washington. *Marine Environmental Research* 31, s. 99-122.
- Chakravorty, S., Lal, B. & Singh, T. P., 1992. Effect of endosulfan (thiodan) on vitellogenesis and its modulation by different hormones in the vitellogenic catfish *Clarias batrachus*. *Toxicology*, 75, s. 191-198.
- Chen, T. T. & Sonstegard, R. A., 1984. Development of a Rapid, Sensitive and Quantitative Test for the Assessment of the Effects of Xenobiotics on Reproduction in Fish. *Marine Environmental Research*, 14, s. 429-430.
- Christiansen, L. B., Pedersen, K. L., Korsgaard, B. & Bjerregaard, P., 1998b. Estrogenicity of Xenobiotics in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) using *in vivo* Synthesis of Vitellogenin as a Biomarker. *Marine Environmental Research*, Vol. 46, No. 1-5, s. 137-140.
- Commission of the European Communities, 1999 (European Community). Community Strategy for Endocrine Disrupters – a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife. Communi-

- cation from the Commission to the Council and the European Parliament. 31 s.
- Denison, M. S., Chambers, J. E. & Yarbrough, J. D., 1981. Persistent Vitellogenin-Like Protein and Binding of DDT in the Serum of Insecticide-Resistant Mosquitofish (*Gambusia affinis*). Comparative Biochemistry and Physiology, Vol. 69C, s. 109-112.
- Desbrow, C., Routledge, E. J., Brighty, G. C., Sumpter, J. P. & Waldock, M., 1998. Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening. Environmental Science & Technology, 32, s. 1549-1558.
- Dodds, E. C. & Lawson, W., 1938. Molecular structure in relation to oestrogenic activity. Compounds without aphenanthrene nucleus. Proc. Royal Society London, 125, s. 222-232.
- Donohoe, R. M. & Curtis, L. R., 1996. Estrogenic activity of chlordecone, o,p'-DDT and o,p'-DDE in juvenile rainbow trout: induction of vitellogenesis and interaction with hepatic estrogen binding sites. Aquatic Toxicology 36, s. 31-52.
- Dons, C. & Beck, P. Å., 1993. Miljøgifter i Norge. SFT-rapport nr. 93:22. 114 s.
- Fairchild, W. L., Swansburg, E. O., Arsenault, J. T. & Brown, S. B., 1999. Does an Association between Pesticide Use and Subsequent Declines in Catch of Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Represent a Case of Endocrine Disruption? Environmental Health Perspectives, Volume 107, No. 5, s. 349-357.
- Fernandez, M. F., Pedraza, V. & Olea, N., 1998. Estrogens in the environment: is there a breast cancer connection? (review). The Cancer Journal, vol. 11, no. 1, s. 11-17.
- Fry, D. M., 1995. Reproductive Effects in Birds Exposed to Pesticides and Industrial Chemicals. Environmental Health Perspectives 103 (Suppl. 7): s. 165-171.
- Guillette, L. J., Jr., Gross, T. S., Masson, G. R., Matter, J. M., Percival, H. F. & Woodward, A. R., 1994. Developmental Abnormalities of the Gonad and Abnormal Sex Hormone Concentrations in Juvenile Alligators from Contaminated and Control Lakes in Florida. Environmental Health Perspectives 102: s. 680-688.
- Harries, J. E., Janbakhsh, A., Jobling, S., Matthiessen, P., Sumpter, J. P. & Tyler, C. R., 1999. Estrogenic Potency of Effluent from two Sewage Treatment Works in the United Kingdom. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 18, No. 5, s. 932-937.
- Harries, J. E., Sheahan, D. A., Jobling, S., Matthiessen, P., Neall, P., Routledge, E. J., Rycroft, R.,

- Sumpter, J. P. & Tylor, T., 1996. A Survey of Estrogenic Activity in United Kingdom Inland Waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 15, No. 11, s. 1993-2002.
- Harries, J. E., Sheahan, D. A., Jobling, S., Matthiessen, P., Neall, P., Sumpter, J. P., Tylor, T. & Zaman, N., 1997. Estrogenic Activity in five United Kingdom Rivers detected by Measurement of Vitellogenesis in caged Male Trout. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 16, No. 3, s. 534-542.
- Harris, C. A., Henttu, P., Parker, M. G. & Sumpter, J. P., 1997. The Estrogenic Activity of Phthalate Esters In Vitro. *Environmental Health Perspectives* 105: s. 802-811.
- Heier, Ole-Håkon & Skagemo, Kjell-Arne, 2000. Hormonforstyrrende stoffer i det akvatiske miljø og påvisning ved eksponeringsforsøk med fisk. Cand. Agric. Oppgave ved Institutt for Biologi og Naturforvaltning, Norges Landbrukshøgskole.
- Howell, W. M. & Denton, T. E., 1989. Gonopodial morphogenesis in female mosquitofish, *Gambusia affinis affinis*, masculinized by exposure to degradation products from plant sterols. *Environmental Biology of Fishes* Vol. 24, No. 1, s. 43-51.
- Huse, A. & Aas-Aune, S., 1995. Kartlegging av fire prioriterte stoffgrupper. Nonylfenol og nonylfenoletoksilater, bromerte flammeretardenter, ftalater og klorparafiner. SFT-rapport 95: 28. 96 s.
- Hylland, K., Fjeld, E., Øxnevad, S. & Pettersen, O., 1999. Kartlegging av effekter av miljø-østrogener på fisk i ferskvann i Norge. NIVA-rapport LNR 3969-98. 34 s.
- Jobling, S., Nolan, M., Tyler, C. R., Brighty, G. & Sumpter, J. P., 1998. Widespread Sexual Disruption in Wild Fish. *Environmental Science & Technology*, 32, s. 2498-2506.
- Jobling, S., Reynolds, T., White, R., Parker, M. G. & Sumpter, J. P., 1995. A Variety of Environmentally Persistent Chemicals, Including Some Phthalate Plasticisers, Are Weakly Estrogenic. *Environmental Health Perspectives* 103: s. 582-587.
- Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J. A., Matthiessen, P. & Sumpter, J. P., 1996. Inhibition of Testicular Growth in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to Estrogenic Alkylphenolic Chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 15, No. 2, s. 194-202.
- Kime, D., 1999. A strategy for assessing the effects of xenobiotics on fish reproduction. *The Science of the Total Environment* 225, s. 3-11.
- Larsson, D. G. J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A. H., Olsson, P.-E. & Forlin, L., 1999. Ethinyloestradiol – an

- undesired fish contraceptive?
Aquatic Toxicology 45, s. 91-97.
- Mellanen, P., Petanen, T., Lehtimäki, J., Makela, S., Bylund, G., Holmbom, B., Mannila, E., Oikari, A. & Santti, R., 1996. Wood-Derived Estrogens: Studies *in Vitro* with Breast Cancer Cell Lines and *in Vivo* in Trout. *Toxicology and Applied Pharmacology* 136, s. 381-388.
- Miyamoto, J. & Klein, W., 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment*. Environmental exposure, species differences and risk assessment. *Pure & Applied Chemistry*, Vol. 70, No. 9, s. 1829-1845.
- Monosson, E., Fleming, W. J. & Sullivan, C. V., 1994. Effects of the planar PCB 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl on ovarian development, plasma levels of sex steroid hormones and vitellogenin, and progeny survival in the white perch (*Morone americana*). *Aquatic Toxicology* 29, s. 1-19.
- Mosland, A. B., Kraft, J., Follestad, M. & Eskøy, R., 1996. Kartlegging av stoffer med lignende hormonliknende effekter. SFT-rapport 96: 21. 82 s. + vedlegg.
- Munkittrick, K. R., McMaster, M. E., McCarthy, L. H., Servos, M. R. & Van Der Kraak, G. J., 1998. An Overview of Recent Studies on the Potential of Pulp-Mill Effluents to alter Reproductive Parameters in Fish. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 1: s. 347-371.
- Nordic Council of Ministers, 1996. Chemicals with Estrogen-like Effects. TemaNord 1996: 580. Copenhagen. 278 s.
- Pedersen, K. L., Pedersen, S. N., Christiansen, L. B., Korsgaard, B. & Bjerregaard, P., 2000. The Preservatives Ethyl-, Propyl-, and Butylparaben are Oestrogenic in an *in vivo* Fish Assay. *Pharmacology & Toxicology*, 86, s. 110-113.
- Pelissero, C., Flouriot, G., Foucher, J. L., Bennetau, B., Dunogues, J., Le Gac, F. & Sumpter, J. P., 1993. Vitellogenin Synthesis in Cultured Hepatocytes; An *In Vitro* Test for the Estrogenic Potency of Chemicals. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 44, No. 3, s. 263-272.
- Pelissero, C., Le Menn, F. & Kaushick, S., 1991. Estrogenic Effect of Dietary Soya Bean Meal on Vitellogenesis in Cultured Siberian Sturgeon *Acipenser baeri*. *General and Comparative Endocrinology* 83, s. 447-457.
- Pereira, J. J., Mercaldo-Allen, R., Kuropat, C., Luedke, D. & Sennefelder, G., 1993. Effect of Cadmium Accumulation on Serum Vitellogenin Levels and Hepatosomatic and Gonadosomatic Indices of Winter Flounder (*Pleuronectes ameri-*

- canus*). Archives of Environmental Contamination & Toxicology 24, s. 427-431.
- Purdum, C. E., Hardiman, P. A., Bye, V. J., Eno, N. C., Tyler, C. R. & Sumpter, J. P., 1994. Estrogenic Effects of Effluents from Sewage Treatment Works. Chemistry and Ecology, Vol. 8, s. 275-285.
- Safe, S. H. & Gaido, K., 1998. Phytoestrogens and Anthropogenic Estrogenic Compounds (Annual Review). Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 17, No. 1, s. 119-126.
- Sohoni, Sumpter, 1998, sereal environmental oestrogens are also anti-androgens. Journal of Endocrinology, Vol. 158, s. 327-339.
- Sumpter, J. P. & Jobling, S., 1995. Vitellogenesis as a Biomarker for Estrogenic Contamination of the Aquatic Environment. Environmental Health Perspectives 103 (Suppl. 7): s. 173-178.
- Thomas, P., 1989. Effects of Arochlor 1254 and Cadmium on Reproductive Endocrine Function and Ovarian Growth in Atlantic Croaker. Marine Environmental Research, 28, s. 499-503.
- Toppari, J., Larsen, J. C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette Jr., L. J., Jegou, B., Jensen, T. K., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J. A., Meyer, O., Muller, J., Rajpert-De Meyts, E., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J. & Skakkebaek, N. E., 1996. Male Reproductive Health and Environmental Xenooestrogens. Environmental Health Perspectives, Vol. 104, Supplement 4, s. 741-803.
- Tyler, C. R. & Routledge, E. J., 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment*. Oestrogenic effects in fish in English rivers with evidence of their causation. Pure & Applied Chemistry, Vol. 70, No. 9, s. 1795-1804.
- White, R., Jobling, S., Hoare, S. A., Sumpter, J. P. & Parker, M. G., 1994. Environmentally Persistent Alkylphenolic Compounds Are Estrogenic. Endocrinology 135: s. 175-182.
- Wiese, T. E. & Kelce, W. R., 1997. An introduction to environmental oestrogens. Chemistry & Industry, 18 August 1997, s. 648-653.