

# Hormonforstyrrende stoffer i det akvatiske miljø – 3. Effekter

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

Ole-Håkon Heier er saksbehandler ved Næringsmiddeltilsynet for Sør-Østerdal (NTSØ), Kjell-Arne Skagemo er avdelingsingeniør i helsevernavdelingen i Fredrikstad kommune, Ketil Hylland er forsker ved Norsk institutt for vannforskning (NIVA) og professor ved Norges Landbrukshøgskole (NLH)

## Sammendrag

Effekter på fisk forårsaket av hormonforstyrrende stoffer, både i ferskvann og saltvann, har blitt undersøkt ved en gjennomgang av norske og utenlandske rapporter og artikler. Denne artikkelen gir en kort innføring om hormoner, en gjennomgang av aktuelle analysemetoder, eksponeringsveier for fisk, mulig samvirking mellom stoffer, bioakkumulering og biomagnifisering, biotransformasjon og nedbryting av aktuelle stoffer, samt effekter på fisk, både på individ- og populasjonsnivå. Dette er den siste i en serie på tre artikler.

## Innledning

Effektene av hormonforstyrrende stoffer har så langt vist seg å være mest fremtredende i akvatiske organismer. Dette er ikke uventet, siden de fleste fremmedstoffer, uansett om de slippes ut på land, til luften, eller rett ut i elver og vann, til slutt vil ende opp i ferskvann og hav.

Fisk har vist seg å være en god indikator-organisme for effekter av hormonforstyrrende stoffer.

I Norge har det vært gjennomført overvåking av effekter av østrogenlignende stoffer i ferskvann og langs kysten (Hylland & Braaten 1996; Hylland *et al.* 1998; Hylland *et al.* 1999), samt eksponeringsforsøk med fisk for avløp (Aspholm & Hylland, egne obs.; Knudsen *et al.*, 1997). I tillegg er det gjennomført en del eksperimentelle studier, særlig med laks (se Arukwe & Goksøyr 1998). Målet med denne artikkelen er å sammenfatte effekter av hormonforstyrrende stoffer på fisk, med særlig vekt på miljø-østrogener.

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 (Jobling 1998).

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. Det er også resultater som tyder på at potensielt uheldige effekter skjer i naturen på både individ- og populasjonsnivå, blant annet hos fisk (Purdom *et al.* 1994; Folmar *et al.* 1996) og alligatorer (Guillette *et al.* 1994).

Purdom *et al.* (1994) viste at utslipp fra rensesanlegg i Storbritannia kunne gi østrogenlignende effekter på fisk. I etterkant har flere tilsvarende forsøk blitt utført, både i Storbritannia og i andre land, deriblant Norge, Danmark, Sverige, Tyskland, Nederland, Frankrike, Sveits og USA. Jobling *et al.* (1998) fant klare indikasjoner på at hormonforstyrrende effekter også kan ha effekter på populasjoner av villfisk.

## Hva er hormoner?

Hormoner er kjemiske forbindelser som produseres i spesielle organer (kjertler). Disse forbindelsene blir via blodstrømmen transportert til målceller der de kontrollerer deres aktivitet. Hormonene styrer blant annet kjønnsmodning og vekst. Hormonene hos virveldyr er peptider (blant annet insulin og glukagon), steroider (for eksempel kjønns hormoner) og thyroide hormoner.

Alle hormoner blir produsert i såkalte endokrine kjertler, slik som hypothalamus, hypofysen, binyrene, bukspyttkjertelen, ovarier og testikler. I målcellen binder hormonene seg til et protein, en reseptor, og resultatet blir en spesifikk metabolsk forandring

i cellen. Hormonene er aktive ved svært lave konsentrasjoner (pM-nM) og de blir hurtig nedbrutt. Dermed er effekten ofte kortvarig, men gir muligheten til raske metabolske endringer. Den lave konsentrasjonen og den raske endringen/nedbrytningen gjør at det er vanskelig å måle det aktive nivået av hormoner (Frøland 1991; Mathews & van Holde 1996).

## Østrogen-effekter

Nivåene av østrogen og testosteron blir regulert av gonadotropiske hormoner. Gonadotropiske hormoner er en fellesbetegnelse på hormoner som virker på kjønnsmodning og reproduksjon hos vertebrater. Miljøvariabler som fotoperiode, temperatur, føde, alder, feromoner og sosiale faktorer er alle med på å påvirke produksjonen av gonadotropiske hormoner (Schreibman *et al.* 1990).

Hypotalamus frigjør gonadotropisk frisettende hormoner (GnRH) som stimulerer hypofysen til frigiving av gonadotropiner (GtH I og GtH II) på en dose-avhengig måte (King & Millar 1990). GtH I induserer produksjon av  $17\beta$ -østradiol (E2). I alle vertebrater studert så langt er E2 det viktigste hormonet for plommesyntesen. E2 blir produsert i follikkel-epitelet i ovariet, og deretter transportert via blodet til leveren. I leveren binder østrogenet til en spesifikk østrogenreseptor. Dette fører til at syntesen av blant annet eggskalls- og eggeplommeproteiner settes i gang (Mommsen & Walsh 1988). Vitellogenin (vtg) er forstadiet til eggeplommeprotein og er et gly-

kolipofosfoprotein som finnes hos alle kjønnsmodne hunner hos ovipare vertebrater, inkludert fisk (Mommson & Walsh 1988). Så lenge E2 eller stoffer som hermer E2 er til stede (for eksempel gjennom forurensing), trenger ikke gonadotropiske hormoner være tilstede for at vitellogenese (dannelse av vtg) skal være aktiv.

## Virkningsmekanismer

Hormonforstyrrende stoffer kan virke gjennom direkte interaksjoner med hormonreseptoren (hormonhermende stoff), eller indirekte interaksjoner med hormonsystemet. Agonisme og antagonisme er eksempler på direkte interaksjoner. Potensialet til en agonist eller antagonist avhenger av dennes evne til å "skru på" (agonist) eller blokkere (antagonist) reseptoren. For østradiol-reseptoren (ER) er østradiol (E2) den naturlige agonisten (Mathews & van Holde 1996; Nimrod & Benson 1996).

Stoffer i miljøet som hemmer effektene av naturlige hormoner kalles anti-østrogener og anti-androgener (Sohoni & Sumpter 1998). Disse virker ved flere mekanismer og må ikke nødvendigvis være relatert til binding og aktivering av østrogen/androgen-reseptoren (Kramer *et al.* 1997). Det er foreløpig lite som er kjent om tilstedeværelsen av annet enn østrogenlignende stoffer, men det er sannsynlig at hormonforstyrrende stoffer vil kunne ha flere virkningsmåter (Sumpter 2000).

Indirekte interaksjoner med hormonsystemet er en fellesbetegnelse på effekter som ikke virker direkte gjennom reseptoren. Eksempler på

dette er endringer/påvirkninger av syntesen av proteiner og hormoner og metabolisme, transport og utskillelse av hormoner. I tillegg kan den hormonelle aktiviteten til de hormonregulerende organene hypotalamus og hypofysen påvirkes. Som en følge av dette endres konsentrasjonene av naturlige hormoner (Schwaiger & Negele 1998).

## Analysemetoder

Ideelt sett burde det finnes metoder som kunne identifisere alle typene hormonforstyrrende effekter og også helst interaksjonene mellom dem.

*In vitro* analyser er analyser som utføres under laboratorieforhold på enkeltceller eller cellekulturer, mens *in vivo* analyser utføres med hele organismer. I forvaltningssammenheng benyttes *in vitro* metoder til testing av enkeltkjemikalier eller blandinger, mens *in vivo* metoder benyttes til overvåking. Det er imidlertid metoder under utvikling for uttesting av kjemikalier med fisk som har kort generasjonstid (*in vivo* tester med sebrafisk, medaka og "fathead minnow").

Fordelen ved bruk av *in vitro* analyser er først og fremst at de er både raske og enkle å utføre. Det kan også være vanskelig å studere virkningsmekanismen til et stoff i en hel organisme, delvis på grunn av kompleksiteten til de regulatoriske prosessene i organismen, og delvis på grunn av muligheten at et stoff har flere virkningsmekanismer (Sohoni & Sumpter 1998). Disse problemene unngås til en stor grad ved bruk av *in vitro* analyser. *In vitro* analyser er

heller ikke utsatt for de samme individforskjellene på grunn av kjønn, alder eller fysiologisk status som *in vivo* tester er utsatt for (Pelissero *et al.* 1993).

Det er imidlertid en ulempe at *in vitro* analyser ikke er i stand til å ta hensyn til kompleksiteten til hele organismen. Flere naturlige biologiske mekanismer kan innvirke på effekten av hormonforstyrrende stoffer. Eksempler på slike mekanismer kan være bioakkumulering, nedbrytning eller aktivering av stoffet/stoffene ved metabolismen og/eller om organismen i det hele tatt tar opp stoffet/stoffene (Harries *et al.* 1997; Jobling 1998). Direkte ekstrapolasjon av resultater fra *in vitro* til *in vivo* systemer kan som et resultat av dette føre til feilaktige vurderinger (Harries *et al.* 1997). Måling av plasma vitellogenin hos fisk for å vurdere effekter av eksponering for hormonforstyrrende stoffer, er et eksempel på en *in vivo* metode.

## Hormonforstyrrende potensiale

De fleste stoffene som fram til i dag har blitt funnet å kunne virke hormonforstyrrende, har en relativt svak effekt. Det hormonforstyrrende potensialet varierer, men for eksempel viser flesteparten av de østrogenhermende stoffene et potensiale som er flere tierpotenser svakere enn østradiol (E2) (Sumpter & Jobling 1995). På tross av den lave aktiviteten interagerer slike stoffer med østrogenreseptoren på nøyaktig samme måte som den naturlige liganden E2.

Det kan argumenteres med at siden

mange av de hormonforstyrrende stoffene som har blitt funnet til nå, har relativt svak effekt sammenlignet med de naturlige hormonene, er det usannsynlig at de vil forårsake biologiske effekter. Dette er ikke nødvendigvis korrekt, siden flere av de hormonforstyrrende kontinuerlig tilføres miljøet og forekommer i tilstrekkelige konsentrasjoner til å ha effekt (Tyler & Routledge 1998). Sumpter & Jobling (1995) testet ulike stoffer for østrogenlignende effekt *in vitro*. De fant at flere av disse stoffene stimulerte vtg-syntese ved konsentrasjoner som har blitt funnet i det akvatiske miljø.

Ikke overraskende viser de naturlige og syntetiske østrogenene det største hormonforstyrrende potensialet per mengde stoff. En konsentrasjon av E2 i vann på bare 0.1 ng/L viste seg ifølge Purdom *et al.* (1994) å være tilstrekkelig til å kunne forårsake en signifikant økning i konsentrasjonen av plasma vtg hos fisk etter kun kort eksponering.

Flere undersøkelser har forsøkt å klarlegge potensialet til alkylfenol etoksilater og deres nedbrytingsprodukter, både i forsøk *in vitro* og *in vivo*. Jobling & Sumpter (1993) testet flere alkylfenoler *in vitro* i en levercellekultur fra regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*), og fant at alle viste en svak østrogenlignende effekt med potensiale mellom  $10^{-4}$  og  $10^{-6}$  av potensialet til E2. Undersøkelsene til Madsen *et al.* (1997), med injeksjon av E2 og 4-nonylfenol (4-NF) i laks (*Salmo salar*), tydet på at det relative potensialet til 4-NF *in vivo* er mye høyere enn det som ble rapportert av

Jobling & Sumpter (1993) *in vitro*. Videre fant Jobling *et al.* (1996) og Routledge *et al.* (1998) at oktylfenol (OF) var mer potent *in vivo* (mellom 1/100-del og 1/1000-del av potensialet til E2) enn *in vitro* (omtrent 1/1000-del av potensialet til E2) i forsøk med mort (*Rutilus rutilus*) og regnbueørret. Jobling *et al.* (1996) fant at terskelverdien for vtg-syntese ved eksponering for 4-NF lå på omtrent 10 µg/L *in vivo*, mot 3 µg/L for OF. Dette kan forklares med binding til transport-proteiner, bioakkumulering og/eller metabolisme av stoffene til mer aktive nedbrytingsprodukter (se avsnittene om henholdsvis bioakkumulering og nedbryting nedenfor).

## **Eksponeringsveier for fisk**

Overraskende lite kunnskap finnes om betydningen av ulike eksponeringsveier for hormonforstyrrende stoffer. For landlevende organismer vil man først og fremst forvente at opptaket av fremmedstoffer foregår gjennom matopptak. For akvatiske organismer vil opptak av løste stoffer fra vannet over hud og gjeller være en signifikant eksponeringsrute, i tillegg til opptak via mat. Den første livsfasen til akvatiske organismer er spesielt utsatt for hormonforstyrrende stoffer i vannet.

Generelt vil man forvente at hydrofobe (fettløselige) stoffer vil akkumulere i fisk hovedsakelig igjennom føden, mens mer vannløselige stoffer vil akkumulere ved opptak fra vannet over gjellene. De viktigste opptaksveiene i fisk for hormonforstyrrende stoffer i miljøet avhenger derfor av

vannkjemi, de fysiske og kjemiske egenskapene til stoffet og de lokale fiskeartene (Sumpter 1998).

Den faktiske konsentrasjonen av hormonforstyrrende stoffer i fisk vil avhenge av en rekke faktorer, deriblant biotilgjengelighet, biotransformasjon, biokonsentrasjon/bioakkumulering (Jobling *et al.* 1996) og biomagnifisering. Generelt vil sårbarheten til en art avhenge av de iboende egenskapene til stoffet arten eksponeres for, av størrelsen, varigheten, frekvensen og eksponeringsveien til stoffet, og av måten arten kan absorbere, distribuere, transformere og eliminere stoffer. Sårbarheten vil også avhenge av sensitiviteten til de spesifikke organene ved forskjellige utviklingstrinn (European Community 1999).

## **Stoffblandinger og samvirkende effekter**

I miljøet er det mest sannsynlig at fisk vil eksponeres for mange forskjellige stoffer samtidig (Sumpter & Jobling 1995; Routledge *et al.* 1998). Dette gjelder spesielt avløp fra renseanlegg (Routledge *et al.* 1998). Ingen utslipp er like, og selv om publiserte data for et utslipp gir nyttig informasjon for de som forvalter disse spesifikke vannressursene, må man være forsiktig med å overføre disse til andre utslipp (Harries *et al.* 1999). Videre er det svært viktig å ha kjennskap til effektene som oppstår når flere stoffer virker sammen. Dette for å kunne si noe om eventuelle effekter i naturen. Man har ennå til gode å observere kumulative effekter fra påfølgende

utslipp fra rensanlegg nedstrøms i vassdrag. Imidlertid er det teoretisk mulig hvis utslippene kun produserer en submaksimal respons enkeltvis og avstanden mellom dem er relativt liten (Harries *et al.* 1997).

Flere undersøkelser har vist at blandinger av stoffer kan føre til synergistiske (samvirkende) effekter. Sumpter & Jobling (1995) fant indikasjoner på at fisk som lever i et miljø med østrogenlignende stoffer, viser en kraftigere respons ved eksponering for en blanding av stoffer, enn når de blir eksponert for ett enkelt stoff. Arukwe *et al.* (1998) injiserte atlantisk laks med stoffene 4-nonylfenol og *o,p'*-DDT sammen og enkeltvis. Resultatene indikerte en svak, men uventet reduksjon i konsentrasjonene av plasma *zona radiata* proteiner (Zrp) (eggeskallsprotein som kan brukes som en tilsvarende indikator på østrogenlignende effekter som vtg) etter kombinert eksponering for NF og *o,p'*-DDT, sammenlignet med om fisken ble eksponert for hvert stoff for seg.

Routledge *et al.* (1998) gjorde forsøk hvor de eksponerte hannlig regnbueørret for de naturlige hormonene østron (E1) og østradiol (E2). Stoffene ble tilsatt hver for seg og i kombinasjon i eksponeringskarene. Eksponering for 25 ng/L E1 i blanding sammen med 25 ng/L E2 ga en vtg-syntese som var signifikant større enn den som ble gitt ved de individuelle steroidene hver for seg i konsentrasjoner på 25 ng/L. Dette indikerer at ethvert estimat av den østrogenlignende effekten til et utslipp basert på nivået av steroider, bør vurderes

som en helhet framfor å vurdere komponentene enkeltvis.

Totalt sett synes det som om kunnskapene om samvirkende effekter mellom forskjellige hormonforstyrrende stoffer er lite kjent. Det trengs mer forskning på både hvilke stoffer som virker sammen, og eventuelt hvordan dette skjer.

## Bioakkumulering og biomagnifisering

Mange av de kjente hormonforstyrrende stoffene er lipofile og hydrofobe, og har dermed et stort potensiale til å akkumulere i levende organismer (Sumpter & Jobling 1995; Harries *et al.* 1997; Tyler & Routledge 1998), selv om det er mulig at de konjugeres og skilles raskt ut (Harries *et al.* 1997). For eksempel er biokonsentrasjonsfaktoren (BCF = forholdet mellom konsentrasjonen av et stoff i en organisme og konsentrasjonen av dette stoffet i vannet) for mange klororganiske pesticider, slik som DDT og polyklorerte bifenylter (PCB), mellom 1 000 og 100 000 (Sumpter & Jobling 1995). Tilsvarende er ifølge Nimrod & Benson (1996) BCF til 4-NF i fisk rundt 300.

Denne faktoren er åpenbart svært viktig når man forsøker å vurdere hvor store effekter forurensning av hormonforstyrrende kjemikalier får for det akvatiske habitat. Uansett konsentrasjonen av et bestemt stoff i vannet er det svært usannsynlig at det forårsaker noen effekter, hvis stoffet ikke kommer inn i fisken i noen særlig grad. I motsetning til dette vil et stoff som finnes i svært lave konsentra-

sjoner, men som oppkonsentreres i en organisme til en stor grad, kunne være fysiologisk svært viktig (Sumpter 1995). En konsekvens av bioakkumulering, er at kjemikalier som ikke har eller bare har en svakt hormonforstyrrende effekt *in vitro*, kan være aktive *in vivo* ved betraktelig lavere konsentrasjoner, gitt tilstrekkelig eksponeringstid (Sumpter & Jobling 1995; Harries *et al.* 1997; Arukwe & Goksøyr 1998). De fleste kjente hormonforstyrrende stoffer har imidlertid effekter uten å være bioakkumulering (som østrogen, alkylfenoler).

Det ble vist av Black & McCarthy (1988) at DOC (oppløst organisk karbon) kan binde lipofile stoffer og dermed redusere deres biotilgjengelighet for bioakkumulering. De fant at det syntes som om kun frie og oppløste forurensninger var tilgjengelig for opptak over fiskegjeller. Det har også, ifølge Vigano *et al.* (1994), blitt funnet større biokonsentrasjon i fisk av lipofile stoffer når de var tatt opp både gjennom vann og mat, enn fra vannet alene. Et interessant spørsmål vil dermed være hva vannkvaliteten kan ha å si for eventuell akkumulering av stoffer i fisk. Vil humusrikt vann øke faren for hormonforstyrrende effekter, ved at fisk får i seg stoffene i større grad gjennom maten?

Det er imidlertid ikke nok bare å vite hva som kommer inn i fisken, og i hvilken grad dette skjer. Det er også viktig å vite om det aktuelle stoffet brytes ned i fisken, til hva, og hvor inne i fisken stoffet og dets nedbrytingsprodukt(er) er lokalisert. Forskjellige organismer vil i tillegg kunne bioakkumulere hormonfor-

styrrende stoffer i ulik grad. Bioakkumulering vil ikke fordeles jevnt i hele organismen, men bli konsentrert i noen vev, slik som fett. Hva som skjer med de fleste av disse stoffene etter at de kommer inn i en organisme er lite kjent (Sumpter & Jobling 1995).

Det som imidlertid er kjent, er at fettløselige (lipofile) forurensninger lagres i fettreservene i fysiologisk inaktive former og at dette fett, ved reproduksjon eller kjønnsmodning, mobiliseres. Dermed kan stoffene frigjøres og ha effekter andre steder, for eksempel i kjønnsorganene, og/eller i egg og embryoer under utvikling. Stoffene kan også brytes ned til stoffer som har sterkere effekter enn det opprinnelige stoffet (Arukwe & Goksøyr 1998; Sumpter 1998).

## Biotransformasjon

Det eksisterer få studier av konsentrasjon og fordeling av hormonforstyrrende stoffer i fisk, og man vet dermed lite om hva som skjer med stoffene etter at de har blitt tatt opp av fisken (Jobling *et al.* 1996; Sumpter 1998). Dette er kunnskap som vil være verdifull, siden det for eksempel kan tenkes at noen stoffer som i utgangspunktet ikke virker hormonforstyrrende, kan brytes ned eller omformes i organismer til stoffer med en sterkere effekt. Eksempler er noen hydroksylerte metabolitter av klor- og bromorganiske miljøgifter.

For bedre å forstå skjebnen til nonylfenol (NF) konsumert av akvatiske vertebrater, ble en lav dose (6 µg/kg) og en høy dose (25 mg/kg)

med 4-NF tilført oralt til regnbueørret av Thibaut *et al.* (1998). Stoffene ble vidt utbredt i både vev og organer i fisken, med de høyeste konsentrasjonene i fordøyelsessystemet, leveren og nyrene. Resultatene indikerte at NF blir omsatt i fisk. Undersøkelsene til Coldham *et al.* (1998) og Tollefsen *et al.* (1998) bekreftet til en stor grad disse resultatene. Det ble imidlertid også funnet at på tross av den raske metabolismen og ekskresjonen, forble en stor del av ikke nedbrutt 4-NF i musklene til fisken. Dette kan medføre at effektene av 4-NF i fisken varer lengre, og vil også kunne medføre at organismer som spiser fisk får i seg 4-NF. Larsson *et al.* (1999) eksponerte ung regnbueørret for kjente østrogen og østrogen-lignende stoffer (østron - E1, østradiol - E2, ethinyløstradiol - EE2 og NF) i 46 timer. Analyser av gallen til fisken viste en rask omsetning av de forskjellige stoffene. Det ble funnet at omdanning mellom E1 og E2 åpenbart skjedde i fisken, imidlertid var det ingen indikasjoner på de-etyning av EE2.

## Effekter på individnivå

Effekter av miljø-østrogen har så langt først og fremst vært fokusert på hanner og ungfisk. Dette har sin årsak i at disse har svært lave konsentrasjoner av østrogen i blodet (Jobling *et al.* 1996; Arukwe *et al.* 1997a). Man må imidlertid også kunne forvente at hunnfisk kan påvirkes, siden disse har en mye høyere konsentrasjon av østrogenreseptorer enn hannfisken (Jobling *et al.* 1996). Mesteparten av

effektene som er kjent fra individer utsatt for hormonforstyrrende stoffer, har sammenheng med økt syntese av vitellogenin (vtg) med bakgrunn i eksponering for miljø-østrogen. Enda mindre grunnlag finnes det for å vurdere de økologiske effektene av eksponering for stoffer som påvirker andre reproduktive parametre. Like fullt har man kjennskap til mange andre uheldige effekter som følge av eksponering for hormonforstyrrende stoffer.

Utviklingsmessig og reproduktiv toksisitet kan virke under både utviklingen av larve-, juvenil- og voksenstadiet, avhengig av den aktuelle arten. Eksponering under tidlige livsstadier kan føre til endringer i nøkkelprosser i utviklingen (for eksempel kjønnsbestemmelse), i tillegg til økt mottakelighet for kjemisk påvirkning som voksne. Eksponering av voksne individer kan også forstyrre normale reproduktive parametre (Jobling *et al.* 1996). Vanlig observerte effekter av hormonforstyrrende stoffer i fisk er redusert fekunditet og/eller fertilitet (Munkittrick *et al.* 1991), unormalt forhøyede nivåer av plasma vtg (Purdom *et al.* 1994), morfologiske endringer (Howell & Denton 1989), endrede nivåer av hormoner i plasma (Munkittrick *et al.* 1994), tvekjønnede gonader (Purdom *et al.* 1994; Jobling *et al.* 1998), unormal hypofysefunksjon (Hontela *et al.* 1997) og demaskulinisering og feminisering i hannfisk (Munkittrick *et al.* 1991).

Østrogen-indusert vtg-syntese utenom den normale modningsperioden vil føre til bruk av energi-



ressurser. Den økologiske implikasjonen av dette kan være at påvirkede fisker får redusert vekst og/eller reproduksjon, noe som i det lange løp igjen kan påvirke rekrutteringen i populasjonen. Syntese av vtg hos yngel forbruker også tilgjengelige energiressurser. Dermed kan sannsynligheten for at yngel overlever før de begynner å ta til seg næring bli redusert (Jobling *et al.* 1996; Arukwe & Goksøy 1998).

Det er kjent at for store mengder av vtg kan føre til skader på nyrene (Jobling 1998). I tillegg synes det å være en sammenheng mellom produksjonen av dette proteinet og inhibering av testikkelvekst (Jobling *et al.* 1996; Lye *et al.* 1998). Dette kan tenkes å redusere fertiliteten. Det har også blitt vist at syntese av høye konsentrasjoner av plasma vtg fører til at vitale organer slutter å fungere og døden inntreffer (Herman & Kincaid 1988). Videre kan østradiol (E2) hemme aktiviteten til cytokrom P450 (en type enzymer), noe som igjen kan føre til redusert evne hos den enkelte fisk til å bryte ned og skille ut østrogen (Arukwe & Goksøy 1998). Tap av kalsium fra skjelett og skjell under aktiv vtg-syntese kan øke muligheten for sykdom hos fisk (Carragher & Sumpter 1991).

Piferrer & Donaldson (1989) viste effekter av miljø-østrogen på utviklingen av gonadene til stillehavslaks (*Oncorhynchus kisutch*). Madsen *et al.* (1997) fant at både E2 og 4-NF signifikant hemmet smoltifikasjonsprosessen hos lakseyngel.

## Effekter på populasjonsnivå

Et svært viktig spørsmål er om hormonforstyrrende stoffer finnes i høye nok konsentrasjoner i miljøet til å kunne forårsake effekter på individer, populasjoner og bestander. De økologiske konsekvensene av eksponering for disse stoffene stort sett ukjente (Sumpter & Jobling 1995; Arukwe & Goksøy 1998). Like fullt finnes flere studier som viser en sammenheng mellom eksponering av organismer for hormonforstyrrende stoffer, reproduktive skader, og påfølgende effekter på populasjonsnivå (Arukwe & Goksøy 1998). Man må imidlertid være klar over at mange faktorer påvirker naturlige populasjoner (Campbell & Hutchinson 1998) i tillegg til alle faktorene som kan påvirke effektene til hormonforstyrrende stoffer (Arukwe & Goksøy 1998). Det kan synes en lang vei fra å påvise at noen stoffer virker hormonforstyrrende på enkeltorganismer til å vise at disse effektene faktisk har følger for populasjoner og bestander som helhet.

Til nå er det eneste eksemplet på at hormonforstyrrelser forårsaker nedgang i populasjoner (i mange tilfeller, fullstendig utryddelse) effekten av tributyltinn (TBT) på enkelte sneglearter (Sumpter 2000). Det mangler kunnskap om hvorvidt tvekjønnede fisk kan produsere gameter (egg eller melke), om noen av gametene som produseres kan slippes ut, og hvordan kvaliteten på disse gametene er. Til det er fastslått om disse tvekjønnede fiskene kan, eller

ikke kan, reprodusere, kan ikke effektene av tvekjønnetheten på populasjoner kvantifiseres. I tillegg kommer alle de effektene som ikke går direkte på reproduksjonen (Sumpter 1998). Det er usikkerheter forbundet med det å:

- vise sammenhengen mellom eksponering for hormonforstyrrende stoffer og de fysiologiske effektene på fisk.
- tyde de biokjemiske og fysiologiske effektene i sammenheng med hva de betyr for hele organismen.
- sammenstille responsene til individet og relevansen av disse til økologisk viktige mål, slik som populasjonens levedyktighet.

Jobling *et al.* (1998) rapporterte en omfattende undersøkelse av effekter av hormonforstyrrende stoffer på populasjoner av fisk. Resultatene ga sterke indikasjoner på at utslipp av avløpsvann til britiske elver medførte økte forekomster av tvekjønnet mort. Undersøkelsene til blant annet Allen *et al.* (1999) av villfanget skrubbe (*Platichthys flesus*) tyder også på at disse har reproduktive forstyrrelser. Fairchild *et al.* (1999) viste at det var en signifikant negativ sammenheng mellom oppvandring av laks og andelen tilløpselver i nedbørsfeltet til Restigouche River i Canada som var sprayet med et insekticid som inneholdt 4-nonylfenol. Det ble også vist sammenheng mellom disse tilførselene og en markant økt smolt-dødelighet i 1977. Leatherland (1997) rapporterte forstørrelse av hypofysen hos 2-4 år gammel laks i The Great Lakes i Nord-Amerika. Flere lakse-

stammer viser også redusert fertilitet og sterkt øket dødelighet som embryoer. Årsaken til dette er ikke helt klar, men forfatterne mener det er sannsynlig at effektene skyldes påvirkning av hormonforstyrrende stoffer. Gronen *et al.* (1999) eksponerte japansk medaka (*Oryzias latipes*) for 4-*tert*-oktylfenol i akvarier. Dette resulterte i en nedgang i antallet egg som ble produsert av hunnlige partnere til eksponerte hanner, en nedgang i prosent befruktning og en nedgang i overlevelsen til larver. Slike effekter kan resultere i at reproduksjonen faller under det nivået som kreves for å opprettholde en levedyktig populasjon.

## Konklusjon

Det er etterhvert betydelige kunnskaper om effekter av miljø-østrogener. Det er imidlertid begrensede kunnskaper om eventuelle effekter på andre hormonelle systemer, som androgener, thyroide hormoner og veksthormoner. Andre områder der det er begrensede kunnskaper er variasjon mellom arter, samvirkning mellom stoffer, bioakkumulering og biomagnifisering, biotransformasjon og nedbryting av stoffer. Det er klare bevis på at flere stoffer har en hormonforstyrrende effekt på fisk, imidlertid er utstrekningen av dette problemet i naturen langt mer ukjent.

## Litteratur

Allen, Y., Scott, A. P., Matthiessen, P., Haworth, S., Thain, J. E. & Feist, S., 1999. Survey of Estrogenic Activity in United Kingdom Estuarine and Coastal Waters and its Effects on

Gonadal Development of the Flounder *Platichthys flesus*. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 18, s. 1791-1800.

Arukwe, A., Celius, T., Walther, B. T. & Goksøyr, A., 1998. Plasma Levels of Vitellogenin and Eggshell *Zona Radiata* Proteins in 4-Nonylphenol and *o,p'*-DDT Treated Juvenile Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Marine Environmental Research, Vol. 46, No. 1-5, s. 133-136.

Arukwe, A. & Goksøyr, A., 1998. Xenobiotics, Xenoestrogens and Reproduction Disturbances in Fish. *Sarsia* 83: s. 225-241.

Arukwe, A., Forlin, L. & Goksøyr, A., 1997a. Xenobiotic and Steroid Biotransformation Enzymes in Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Liver treated with an Estrogenic Compound, 4-Nonylphenol. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 16, No. 12, s. 2576-2583.

Arukwe, A., Knudsen, F. R. & Goksøyr, A., 1997b. Fish *Zona Radiata* (Eggshell) Protein: A Sensitive Biomarker for Environmental Estrogens. Environmental Health Perspectives 105, s. 418-422.

Black, M. C. & McCarthy, J. F., 1988. Dissolved Organic Macromolecules reduce the Uptake of Hydrophobic Organic Contaminants by the Gills of Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 7, s. 593-500.

Campbell, P. M. & Hutchinson, T. H., 1998. Wildlife and Endocrine Disrupters: Requirements for Hazard Identification (Annual Review). Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 17, No. 1, s. 127-135.

Carragher, J. F. & Sumpter, J. P., 1991. The Mobilization of Calcium from Calcified Tissues of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced to synthesize Vitellogenin. Comparative Biochemistry & Physiology, Vol. 99A, No. 1, s. 169-172.

Coldham, N. G., Sivapathasundaram, S., Dave, M., Ashfield, L. A., Pottinger, T. G., Goodall, C. & Sauer, M. J., 1998. Biotransformation, Tissue Distribution, and Persistence of 4-Nonylphenol Residues in Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Drug Metabolism and Disposition, Vol. 26, No. 4, s. 347-354.

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. Communication from the Commission to the Council and the European Parliament. 31 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.

Folmar, L. C., Denslow, N. D., Rao, V., Chow, M., Crain, D. A., Enblom, J., Marcino, J. & Guillette, Jr., L. J., 1996. Vitellogenin Induction and Reduced Serum Testosterone Concentrations in Feral Male Carp (*Cyprinus carpio*) Captured Near a Major Metropolitan Sewage Treat-

ment Plant. Environmental Health Perspectives 104: s. 1096-1101.

Frøland, A., 1991. Endokrinologi. 2. Utg. Munksgaard, København. 192 s.

Gronen, S., Denslow, N., Manning, S., Barnes, S., Barnes, D. & Brouwer, M., 1999. Serum Vitellogenin Levels and Reproductive Impairment of Male Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) Exposed to 4-*tert*-Octylphenol. Environmental Health Perspectives 107: s. 385-390.

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., 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.

Herman, R. L. & Kincaid, H. L., 1988. Pathological Effects of Orally Administred Estradiol to Rainbow Trout. Aquaculture, 72: s. 165-172.

Hontela, A., Daniel, C. & Rasmussen, J. B., 1997. Structural and functional impairment of the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish exposed to bleached kraft mill effluent in the St Maurice River, Quebec. Ecotoxicology 6, s. 1-12.

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.

Hylland, K., Berge, J. A., Goksøyr, A., Pettersen, O., Sætre, T. & Efraimsen, H., 1998. Effekter av østrogenlignende stoffer i norske kystfarvann. NIVA-rapport LNR 3668-98. 71 s.

Hylland, K. & Braaten, B., 1996. Kartlegging av mulige østrogenlignende effekter i miljøet i Norge. a) Biologiske effekter. NIVA-rapport LNR 3422-96. 44 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., 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment\*. Review of suggested testing methods for endocrine-disrupting chemicals. Pure & Applied Chemistry, Vol. 70, No. 9, s. 1805-1827.

- 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., 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.
- Jobling, S. & Sumpter, J. P., 1993. Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: An in vitro study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic toxicology*, 27, s. 361-372.
- King, J. A. & Millar, R. P., 1990. Genealogy of the GnRH Family. *Progress in Clinical and Biological Research*, volume 342. (Progress in Comparative Endocrinology, editors: Epplé, A., Scanes, C. G. & Stetson, M. H.) s. 54-59.
- Knudsen, F. R., Schou, A. E., Wiborg, M. L., Mona, E., Tollefsen, K.-E., Stenersen, J. & Sumpter, J. P., 1997. Increase of Plasma Vitellogenin Concentration in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Exposed to Effluents from Oil Refinery Treatment Works and Municipal Sewage. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology* 59: s. 802-806.
- Kramer, V. J., Helferich, W. G., Bergman, Å., Klasson-Wehler, E. & Giesy, J. P., 1997. Hydroxylated Polychlorinated Biphenyl Metabolites Are Anti-estrogenic in a Stably Transfected Human Breast Adenocarcinoma (MCF7) Cell Line. *Toxicology and Applied Pharmacology* 144, s. 363-376.
- Larsson, D. G. J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A. H., Olsson, P.-E. & Forlin, L., 1999. Ethinylloestradiol – an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicology* 45, s. 91-97.
- Leatherland, J. F., 1997. Endocrine and Reproductive Function in Great Lakes Salmon. *Journal of Clean Technology, Environmental Toxicology and Occupational Medicine*, Vol. 6, No.4, s. 381-395.
- Lye, C. M., Frid, C. L. J. & Gill, M. E., 1998. Seasonal reproductive health of flounder *Platichthys flesus* exposed to sewage effluent. *Marine Ecology Progress Series*, Vol. 170, s. 249-260.
- Madsen, S. S., Mathiesen, A. B. & Korsgaard, B., 1997. Effects of 17 $\alpha$ -estradiol and 4-nonylphenol on smoltification and vitellogenesis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Physiology and Biochemistry* 17: s. 303-312.
- Mathews, C. K. & van Holde, K. E., 1996. *Biochemistry*, 2nd edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., 1159 s.
- Mommsen, T. P. & Walsh, P. J., 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. *Fish Physiology*, vol. XIA, edited by Hoar W. S. & Randall D. J., s. 347-406.
- Munkittrick, K. R., Portt, C. B., Van Der Kraak, G. J., Smith, I. R. & Rokosh, D. A., 1991. Impact of Bleached Kraft Mill Effluent on Population Characteristics, Liver MFO Activity, and Serum Steroid

Levels of a Lake Superior White Sucker (*Catostomus commersoni*) Population. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Vol. 48, s. 1371-1380.

Munkittrick, K. R., Van Der Kraak, G. J., McMaster, M. E. & Portt, C. B., 1994. Survey of Receiving-Water Environmental Impacts associated with Discharges from Pulp Mills. 2. Gonad Size, Liver Size, Hepatic EROD Activity and Plasma Sex Steroid Levels in White Sucker. Environmental Toxicology and Chemistry, Vol. 13, No. 7, s. 1089-1101.

Nimrod, A. C. & Benson, W. H., 1996. Environmental Estrogenic Effects of Alkylphenol Ethoxylates. Critical Reviews in Toxicology, 26(3): s. 335-364.

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.

Piferrer, F. & Donaldson, E. M., 1989. Gonadal Differentiation in Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*, After a Single Treatment With Androgen or Estrogen at Different Stages During Ontogenesis. Aquaculture, 77, s. 251-262.

Purdom, 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.

Routledge, E. J., Sheahan, D., Desbrow, C., Brighty, G. C., Waldock, M. & Sumpter, J. P., 1998. Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 2. In Vivo Responses in Trout and Roach. Environmental Science & Technology, 32, s. 1559-1565.

Schreibman, M. P., Holtzman, S. & Cepriano, L., 1990. The Life Cycle of the Brain-pituitary-gonad-axis in Teleosts. Progress in Clinical and Biological Research, volume 342. (Progress in Comparative Endocrinology, editors: Epplé, A., Scanes, C. G. & Stetson, M. H.) s. 399-408.

Schwaiger, J. & Negele, R. D., 1998. Plasma Vitellogenin – A Blood Parameter to evaluate Exposure of Fish to Xenoestrogens (Invited Review). Acta Veterinaria Brno, 67: s. 257-264.

Sohoni, P. & Sumpter, J. P., 1998. Several environmental oestrogens are also anti-androgens. Journal of Endocrinology 158, s. 327-339.

Sumpter, J. P. (Edited by Norberg, B., Kjesbu, O. S., Taranger, G. L., Andersson, E. & Stefansson, S. O.), 2000. Endocrine disrupting chemicals in the aquatic environment. Proceedings of the 6th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. Institute of Marine Research and University of Bergen, Bergen.

Sumpter, J. P., 1998. Xenoendocrine disrupters – environmental impacts. Toxicology Letters 102-103, s. 337-342.

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.

Thibaut, R., Debrauwer, L., Rao, D. & Cravedi, J. P., 1998. Disposition and Metabolism of  $^3\text{H}$ -4-n-Nonylphenol in Rainbow Trout. Marine Environmental Research, Vol. 46, No. 1-5, s. 521-524.

Tollefsen, K.-E., Ingebrigtsen, K., Olsen, A.J., Zachariassen, K.E., Johnsen, S., 1998. Acute toxicity and toxicokinetics of 4-heptylphenol in juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua* L.). Environmental Toxicology and Chemistry, 17: 740-746.

Toppari, J., Larsen, J. C., Christensen, 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

Meys, E., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J. & Skakkebaek, N. E., 1996. Male Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens. Environmental Health Perspectives, Vol. 104, Supplement 4, s. 741-803.

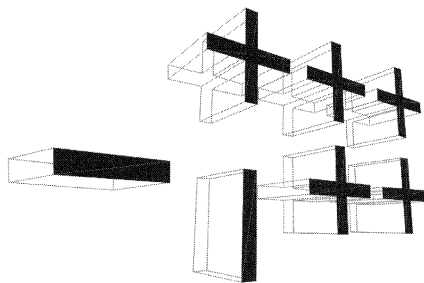
Tyler, C. R. & Routledge, E. J., 1998. Natural and anthropogenic environmental oestrogens: the scientific basis for risk assessment\*. Oestrogenic effects in fish in English rivers with evidence of their causation. Pure & Applied Chemistry, Vol. 70, No. 9, s. 1795-1804.

Vigano, L., Galassi, S. & Arillo, A., 1994. Bioconcentration of Polychlorinated Biphenols (PCBs) in Rainbow Trout caged in the River Po. Ecotoxicology and Environmental Safety 28, s. 287-297.

## Asplan Viak

*Asplan Viak-gruppen er et av landets største rådgivingsmiljø med 375 ansatte. Asplan Viak Sør AS er ett av 6 heleide datterselskap til Asplan Viak Konsern AS.*

*Asplan Viak Sør er i dag det største av disse 6 operative selskapene med 135 ansatte.*



- Vannbehandling
- Vannforsyning
- Lekkasjesøk
- Modellering
- Ledningsanlegg
- Ledningskart
- Geodata/GIS
- Hydrogeologi
- Avløpsrensing
- Avløpsanlegg
- Driftskontroll
- Renovasjon
- Byggeteknikk
- Arkitektur
- Landskap
- Web

#### Kontorsteder:

- Arendal
- Risør
- Kristiansand
- Lyngdal
- Skien
- Sandvika
- Molde
- Stavanger
- Trondheim
- Tønsberg

Internett: [www.asplanviak.no/avsor](http://www.asplanviak.no/avsor)

# Asplan Viak Sør

TK-senteret Longum Park Serviceboks 701 4808 Arendal  
Tlf: 37 03 55 60 e-post: [Arendal@asplanviak.no](mailto:Arendal@asplanviak.no)