



UPPSALA
UNIVERSITET

Utgör PCB ett hot mot valpopulationer?

Ellinor Berkelind

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Utgör PCB ett hot mot valpopulationer?

Ellinor Berkelind

Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Polyklorerade bifenyler (PCB) är en grupp miljögifter som användes som tillsats i många olika produkter, till exempel som tillsats i fogmassa och målarfärg innan de förbjöds under 1970-talet och 1980-talet. Gemensamt för PCBer är att de är hydrofoba och ackumuleras i fettvävnaden hos diverse organismer vilket kan resultera i olika skador hos dessa. PCB har via läckage nått ut till marina miljöer och ansamlats i bland annat valar, Cetacea. Det är känt att valpopulationer minskar allt mer och att PCB är en bidragande faktor till detta. Höga koncentrationer av PCB ansamlas i vävnader och organ, vilket kan påverka immunförsvaret, reproduktionsförmågan och öka risken för cancer och tumörer. Vissa PCBer har hormonliknande effekter och kan därför påverka det endokrina systemet, genom att bland annat inhibera ägglossning. Överstimulering av syntetiseringen av hormonet oxytocin som orsakas av PCB är ett exempel på hur ägglossningen kan rubbas. Aryl kolväte receptorer (AHR) har till exempel visat sig ha hög affinitet för PCBer. När PCB binder till AHR leder detta till en överstimulering av syntetisering av hormoner. Dessa AHR har upptäckts hos vitvalar, vilket tyder på att de sannolikt finns hos flera olika valarter. Detta indikerar att studier som sker på AHR *in vitro* bör kunna tillämpas på valar. Detta kan ge en ökad förståelse för hur PCB kan bidra till minskade valpopulationer.

Inledning

Polyklorerade bifenyler (PCB) är en grupp svårnedbrytbara organiska föreningar som användes i stora industrier under mitten av 1900-talet. PCB klassificeras som persistenta organiska föreningar (POP), vilket är samlingsnamnet för organiska miljögifter. Gemensamt för ämnen som tillhör POP är att de är hydrofoba och ackumuleras i fettvävnaden hos människor samt andra djur. På grund av att de är svårnedbrytbara finns de kvar länge i miljön även om användningen av organiska miljögifter förbjöds redan under 1970 och 1980-talet runt om i världen. Beroende på vilken kemisk struktur organiska miljögifter har är de olika giftiga, har olika toxikologiska effekter på miljön och organismer samt har olika spridningsvägar (Sundqvist & Wiberg 2013).

PCB har via läckage tagit sig ut i miljön och finns både i akvatiska och terrestra ekosystem. Höga halter av PCB ansamlas bland annat i hamnar där det tidigare använts i båtfärg som sedan har läckt ut i havet när färgen åldrats. PCB-utsläppen under 1900-talet berodde på att människan producerade detta i stora mängder för olika användningsapplikationer som till exempel i fogmassa och bekämpningsmedel. Direkta utsläpp av PCB har skett genom att det har använts som tillsats i bland annat färg, plast och skärolja (Sundqvist & Wiberg 2013).

Valar, Cetacea, är den ordning som innefattar de största marina däggdjuren. De utsätts idag för en rad antropogena faktorer som är bidragande orsaker till varför valpopulationer har minskat under de senaste decennierna. Antropogena faktorer som jakt, högt fisketryck på valars föda och båtbuller påverkar valar negativt (Lavandier *et al.* 2015).

Olika arter inom ordningen valar har en skiftande födokällor, där vissa konsumerar krill som är placerade långt ner i näringskedjan medan andra valars föda är baserad på djur högre upp i näringskedjan som till exempel fisk och säl. Valarnas födoval påverkar koncentrationer av

miljögifter som intas och ackumuleras. Valar som befinner sig högt upp i näringskedjan löper stor risk att få i sig högre koncentrationer av miljögifter, som bland annat PCB. På grund av detta utsätts valars välbefinnande för risker då exempelvis PCB kan bidra till försämrat immunförsvar och reproduktionsförmåga samt öka risken för cancer och tumörer hos valar. (Wolkers *et al.* 2007).

På grund av PCBs hydrofobiska egenskaper ackumuleras de i många olika vävnader hos valar men framför allt i späcket. Hur PCB påverkar människor är väl dokumenterat men vilka effekter PCB har på valar är inte lika känt. Dock vet man att PCB har negativa effekter på valar då miljögifter kan förändra cellsignalering, hämma bindningen till receptorer och påverka reproduktionsförmågan. Valar är redan idag utsatta på grund av högt fisketryck, miljöklimateförändringar och miljögifter (Lavandier *et al.* 2015) men på vilket sätt kan PCB utgöra ett ytterligare allvarligt hot mot valpopulationer?

PCB och dess inverkan på valar

Polyklorerade bifenylar är ett samlingsnamn för isomerer och kongener, det vill säga olika varianter av PCB med olika antal kloratomer bundna till de två aromatiska ringarna. Beroende på kloratomernas placering blir toxiciteten olika (Kerkvliet 1995). PCB är en familj med 209 olika organiska föreningar. Svårnedbrytbara organiska föreningar användes i större omfattning inom industrier under 1900-talet. De producerades i stora mängder världen över och användes som tillsatts i allt från bläck, färg, bekämpningsmedel till dielektriska vätskor. Ämnen klassificerade som PCB användes på grund av att de är stabila, reaktionströga och saknar förmåga att leda ström (Tanabe 1988).

PCBer kan generellt sätt delas in i två olika grupper, plana PCBer och icke-plana PCBer. Där plana PCBer även benämns som dioxinlika PCBer, på grund av att de har liknade strukturer som dioxinernas och verkar via samma mekanismer som de. Dioxiner är också ett miljögift som tillhör POP-kategorin (Tanabe 1988). Både plana PCBer och dioxiner har toxikologiska effekter som kan orsaka tumörer, mutationer och störningar på reproduktionssystemet medan icke-plana PCBer saknar dessa dioxinliknade egenskaper.

PCB i miljön

Produktionen och användningen av PCB förbjöds i Japan och USA under 1970-talet, Europa införde samma förbud under 1980-talet då man fick kännedom om de stora skador som PCB orsakade på miljön och människors hälsa samt arters fysiologiska välbefinnande. Utsläpp av PCB har bland annat ansamlats i marina miljöer, delvis då PCB läckt ut i miljön med regn som sedan sköljts ut i vattendrag för vidare transport till sjöar och hav. PCB kan likaså färdas långa sträckor i atmosfären och slutligen ansamlas i marina miljöer (Ross *et al.* 2000). Havet fungerar som en sänka för PCB och trots att användningen av svårnedbrytbara organiska föreningar har upphört har inte koncentrationerna av PCB försvunnit från de marina miljöerna. De har däremot lagrats i sedimenten (Jepson *et al.* 2016). Där löper organismer från låga trofinivåer stor risk att ackumulera dessa miljögifter från sedimenten som sedan transporteras högre upp i näringskedjan genom predatorer (Lee *et al.* 2001).

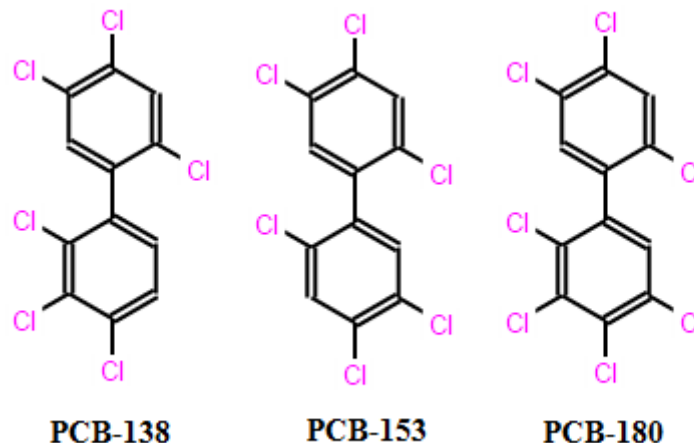
Valar

Valar tillhör ordningen *Cetacea*, i denna ordning finns två underordningar som valar kategoriseras in i. Det är bardvalar, *Mysticeti* och tandvalar, *Odontoceti*.

Valar har stora fettförråd, det vill säga deras späcklager som består av fettlipider. Genom att undersöka olika organ och vävnader har tidigare studier kommit fram till att de högsta

koncentrationerna av PCB i valar främst återfinns i fettvävnad och därefter i levern (Storelli *et al.* 2012). Valars vars föda är baserad på höga trofiska nivåer löper större risk att ansamla högre koncentrationer av toxiska ämnen jämfört med de valar som baserar sin föda på djur från lägre trofiska nivåer. Detta på grund av att miljögifter ansamlas i näringskedjan (Murphy *et al.* 2015). Valar är den ordning inom marina däggdjur som uppvisar de högsta koncentrationerna av toxiska ämnen just på grund av deras placering i näringskedjan och deras stora fettförråd. Ackumulering av PCB sker genom valars bristande förmåga att eliminera lipofila, fettlösliga, föreningar genom vatten och blodutbytet (Schwacke *et al.* 2002).

De mest förekommande PCB kongenerna hos valar är PCB-138 (2,2',3,4,4',5'-Hexaklorbifenyl), PCB-153 (2,2',4,4',5,5'-Hexaklorbifenyl) och PCB-180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptaklorbifenyl) (Figur 1). Det är även de PCBer som ansamlas i störst mängd (Lavandier *et al.* 2016, Storelli *et al.* 2012, Lavandier *et al.* 2015, Ross *et al.* 2000). Samtliga ovannämnda PCBer klassificeras som plana PCBer. Biologiska faktorer som ålder, kön och reproduktionsmognad påverkar hur mycket PCB som ansamlas i vävnader och organ hos valar. Det lägsta tröskelvärdet för ansamling av PCB som kan ge uppkomst till fysiologiska effekter är 9 mg / kg lipid Σ PCB och det absolut högsta tröskelvärdet rapporterat från marina däggdjur är 41 mg / kg lipid Σ PCB. Det värdet uppmättes hos vikare från Östersjön som led av kraftiga reproduktionssvårigheter (Jepson *et al.* 2016). En annan studie av Ross *et al.* (2000) hade ett tröskelvärde på 16,8 mg / kg lipid. PCB koncentrationer över detta tröskelvärde bidrar till försämrad reproduktionsförmåga samt försämrat immunförsvar.



Figur 1. Strukturer i 2D på några olika PCBer. Strukturen på de mest förekommande PCBerna, PCB-138, PCB-153 och PCB-180.

Skillnader mellan honor och hanar

Genom att mäta koncentrationen av PCB i fettvävnaden hos valar har forskning påvisat att ju äldre en val är desto högre koncentrationer av PCB har ansamlats. Dessutom har det visats att hanar har högre koncentrationer av PCB än vad honor har. Anledningen till att hanar har högre koncentrationer av svårnedbrytbara organiska ämnen än honor är för att honor gör sig av med dessa ämnen genom mjölkutsöndring och graviditet. Därmed får honans kalv i sig en del av hennes utsöndrade mängd PCB (Ross *et al.* 2000). En honas mjölk består av 40 % fett och en kalv kan dia upp till elva månader vilket innebär att en kalv kan få i sig upp till 90 % av honans PCB koncentrationer. En studie gjord av Schwacke *et al.* (2002) visade att den förstfödda kalven hos tre utav fyra honor hos flasknosdelfiner (*Tursiops truncatus*) inte skulle överleva på grund av för höga ansamlade koncentrationer av PCB i vävnader och organ hos

honorna som sedan överförs. Ökad kalvmortalitet har redan noterats bland flera olika arter, såsom späckhuggare (Ross *et al.* 2000, Hall *et al.* 2006). En hypotes om ökad kalvdödlighet tror sig vara sammanlänkat med störningar på det endokrina systemet som kan orsakas av PCB (Hall *et al.* 2006).

Föda och habitat

Det är inte bara kön och ålder som påverkar koncentrationerna av PCB i fettvävnaden utan även en valps livshistoria spelar en viktig roll. Faktorer som påverkar hur mycket PCB som ansamlas i späcket är föda och miljö. En studie gjord av Ross *et al.* (2000) fokuserade på hur olika späckhuggarpopulationer (*Orcinus orca*) påverkades av PCB beroende på deras livshistoria. Det visade sig att de fiskätande späckhuggarna som befann sig utanför kusten vid British Columbia året om hade lägre koncentrationer av svårnedbrytbara organiska föreningar jämfört med den migrerande marina däggdjursätande späckhuggarpopulationen. Skillnaderna mellan populationerna tros härröra från deras olika kost. Då den population som baserar sin föda på marina däggdjur konsumerar byten högre upp i näringskedjan än vad den fiskätande populationen gör. Den migrerande späckhuggarpopulationens föda består av bland annat Stellers sjölejon (*Eumetopias jubatus*), knobbsäl (*Phoca vitulina*) och vanliga tumlare (*Phocoena phocoena*), vilka ansamlar högre koncentrationer av PCB jämfört med vad fiskar ackumulerar.

Kontaminering av världshaven

Olika hav är olika kontaminerade av svårnedbrytbara organiska föreningar. Detta beror på att hav kontamineras olika beroende på omgivande antropogena industrier. Hav som omges av flertaliga industrisamhällen har högre halter miljögifter gentemot de som inte har närliggande industrisamhällen. Valar som befinner sig i hav med höga halter av PCB ansamlar högre halter av svårnedbrytbara organiska föreningar i späcket jämfört med valar i mindre kontaminerade hav. Många europeiska hav som Östersjön, Medelhavet och Nordsjön är hav som är starkt kontaminerade av miljögifter eftersom de omges av industritäta länder med stora populationsnivåer (Fossi *et al.* 2003).

Genom att jämföra PCB koncentrationerna hos strimmig delfin (*Stenella coeruleoalba*) i Medelhavet med delfiner av samma art i andra hav noterades att strimmig delfin i Medelhavet hade en till två gånger högre koncentrationer av PCB jämfört med delfiner från Atlanten och Stilla havet. Både Atlanten och Stilla havet är hav som är mindre kontaminerade av diverse miljögifter (Fossi *et al.* 2003). Topp-predatorer i Medelhavet, som bland annat valar, löper även en större risk att utsättas för miljögifter med förmågan att förändra det endokrina systemet. Eftersom plana PCBer kan förändra bindningsiten för östrogen till sin receptor (White *et al.* 1994). Genom att hämma bindning till receptor påverkas reproduktionsförmågan hos valar, därför är det viktigt att övervaka koncentrationen av miljögifter hos valar och åtgärda kontaminering i Medelhavet, Nordsjön och Östersjön för att bevara de marina däggdjuren (Fossi *et al.* 2003).

Minskade valpopulationer

Valpopulationer minskar allt mer, detta sker inom flera olika arter inom ordningen Cetacea. Det har bidragit till färre populationer med mindre individer inom varje population. Denna minskning har observerats hos bland annat späckhuggare, vanlig tumlare, flaskdelfiner och strimmig delfin. Speciellt utsatta är de arter som befinner sig vid kustnära och flodmynningsområden. Minskningen av valar har skett över tid och antalet fortsätter minska bland annat genom jakt och storskaligt fiske på valarnas föda. Utöver jakt och fiske på valars föda spelar även faktorer som förändrade habitat, överexploatering och miljögifter in på

varför valpopulationer minskar (Lavandier *et al.* 2015). Spökfiske ”ghost fishing” är en term som också har en negativ effekt på valpopulationer, eftersom valar fastnar i fiskenät som har blivit kvarlämnat eller borttappat. Detta leder till att de antingen dör på grund av svält eller syrebrist. Spökfiske tror sig vara en av de bidragande faktorerna till varför tumlarpopulationer har minskat. Det finns många olika faktorer som har negativa effekter på valpopulationer och i dagsläget är miljögifter, som PCB, en stor anledning till varför valpopulationer har svårt att återhämta sig (Jepson *et al.* 2016).

Tumlare är väldigt utsatta arter. Vanlig tumlare är till och med akut hotade i Östersjön då det bara finns kvar en population (Jepson *et al.* 2016). Tumlare är populationer som påverkas påtagligt av storskaligt fisket, då deras föda minskar men även att de själva fastnar i fiskenäten. Ansamlingen av miljögifter gör att tumlare blir lättare mottagliga för infektioner och virus. Utsläpp av POP och delvis PCB tror sig vara en av de bidragande faktorerna till redueringen som sker idag. Tumlare i Östersjön har sämre fysiologiskt välbefinnande gentemot populationer i övriga nordiska hav och har betydligt högre koncentrationer PCB jämfört med tumlare fångade runt Grönland, Island och Norges hav, som bedöms ha en betydligt bättre hälsa. Tumlare med god hälsa har tjockare späcklager, mindre skador samt bakterietillväxt på organ jämfört med tumlare i Östersjön (Siebert *et al.* 2006). Allvarliga lungsjukdomar, stort parasiteantal i luftvägarna och inom blodkärlen i lungorna är vanligt förekommande hos tumlare i Östersjön (Siebert *et al.* 2001). PCB tror sig ha ett samband med de tumlare som har dött på grund av smittsamma sjukdomar, då det fanns en signifikant högre andel PCB i de arter som dog på grund av infektioner jämfört med de som avled genom trauma som stress och strandning. Tumlare som befinner sig i europeiska hav har lägre graviditetsfrekvens och längre kalvintervaller jämfört med tumlare i övriga hav. En orsak till detta är att europeiska hav är kontaminerade av olika miljögifter som bland annat PCB på grund av Europas industrisamhälle (Murphy *et al.* 2015).

Metoder för att mäta koncentrationen PCB hos valar

Det enklaste sättet att studera hur PCB påverkar valar är genom att göra mätningar och analyser på lipidlagret i späcket och vävnader hos strandade valar eller på de valar som följer med som bifångst vid fiske. Lipidsammansättningen kan avgöra vilka svårnedbrytbara organiska föreningar som ackumuleras i de olika vävnaderna. Levervävnad består av fosfolipider, fria fettsyror och triglycerider medan fettvävnad består mestadels av triglycerider. Vissa ämnen inom PCB har en hög affinitet till fosfolipider vilket förklarar varför höga koncentrationer av PCB ansamlas i levervävnaden hos valar (Folland *et al.* 2016).

De som har forskat på vilda valar har först fått fånga in dem för att sedan kunna utföra späckanalyser innan valarna släpps igen (Schwacke *et al.* 2002). Det kan utsätta valar för förhöjda stressfaktorer eftersom de flesta arter inom Cetacea har starka band till sin population eller flock. Mycket av den forskning som finns på valar är baserad på strandade valar som har dött på grund av olika orsaker. Det kan vara svårt att studera vilda valar utan att valarna tar skada utav det och sedan är det även svårt att följa samma populationer av valar under flera år om de är vilda.

Eftersom det är svårt att undersöka hur PCB påverkar vilda valar har forskning bedrivits på hur minkar påverkas av samma miljögifter i labb. Minkar är den lämpligaste organismen att använda som toxikologisk modell för marina däggdjur eftersom både minkar och valar befinner sig i toppen av näringskedjan (Folland *et al.* 2016). Genom att ta reda på hur minkar påverkas av förhöjda koncentrationer av PCB bör det vara möjligt att appliceras den forskningen på marina däggdjur, som bland annat valar.

PCB och reproduktionsförmågan

Ansamling av miljögifter som PCB kan vara en bidragande faktor till en försämrad reproduktionsförmåga hos valar. Miljögifter kan påverka flera olika fysiologiska funktioner, genom att hämma det endokrina systemet, försämra immunförsvaret eller bidra till att öka risk för infektioner (Murphy *et al.* 2015). Försämrad reproduktionsförmåga orsakad av POP är påvisad hos flera olika marina däggdjur. Där höga halter av POP leder till en ökad risk för missfall bland sälar (Bergman 2007). Sedan utsätts flasknosdelfinens förstfödda kalv för ökad mortalitet (Wells *et al.* 2005). Det är även noterat att vitvalar (*Stenella coeruleoalba*) kan komma att lida av allvarliga reproduktionssvårigheter på grund av cancer och hermafroditism orsakad av POP (Martineau *et al.* 2003). De flesta valar har långa reproduktionsintervaller. Vanligtvis föder en hona en kalv vartannat till vart fjärde år (Fossi *et al.* 2003). Med ökad mängd miljögifter ansamlad i fettvävnaden kan reproduktionsintervallerna förlängas och även öka mortaliteten för fostret.

Exponering av PCB korrelerat till reproduktionssvårigheter har noterats bland flera olika marina däggdjur utöver valar, till exempel hos minskade sälpopulationer. Populationer av både gråsäl (*Halichoerus grypus*) och vikare (*Pusa hispida*) minskade drastiskt under tidigt 1900-tal på grund av jakt. På senare år har dessa populationer minskat på grund av utsläpp av miljögifter så som PCB, vilket har orsakat yttre skador på fortplantningsorganen som försvårade reproduktionsförmågan (Bredhult *et al.* 2008). Förhöjda koncentrationer av PCB kan leda till försvagat immunförsvaret, förändringar i skelettstrukturen, öka risken för cancer, bidra till reproduktionssvårigheter och påverka ontogenin, som är en individs utveckling från foster till könsmognad (Lavandier *et al.* 2015)

Enligt en undersökning gjord av Murphy *et al.* (2015) noterades att nästan 20 % av de 127 könsmogna tumlar-honor som studien baserades på led av reproduktionssvårigheter. Detta ökade risken för abort, förlossningskomplikationer och dödfödsel. Dessutom upptäcktes att ytterligare 16,5 % av de könsmogna honorna hade infektioner eller tumörer i fortplantningsorganen vilket i sin tur bidrog till en försämrad reproduktionsförmåga. Orsaken till detta tro sig beror på höga koncentrationer av PCB i fortplantningsvävnaden. Flera studier har noterat en försämrad reproduktionsförmåga hos valar och bland annat hos tumlare. Där höga halter av PCB har direkta effekter på reproduktionsförmågan hos honor, vilket leder till dödsfödsel, missfall, dystoci vilket innebär en komplicerad förlossning och högre mortalitet bland kalvar (Jepson *et al.* 2016).

Förhöjda halter av PCB associerat med reproduktionssvårigheter

Flertal studier har undersökt hur förhöjda halter av PCB påverkar diverse djur, många med fokus på hur det påverkar reproduktionsförmågan. Genom att studera minkar i labb har både reproduktionssvårigheter och ökad kullmortalitet noterats (Folland *et al.* 2016). Hos rhesusapor (*Macaca mulatta*) kan PCB leda till missfall och ökad fostermortalitet (Barsotti *et al.* 1976). I fält har det noterats att PCB bidrar till mindre populationer av gråsäl genom ökad förekomst av patologiska förändringar i livmodern och för tidigt födda kullar (Helle *et al.* 1976). Det finns även mycket forskning på hur PCB påverkar det endokrina systemet hos människor. Mycket av forskningen har en signifikans på att PCB påverkar djur och människor negativt, vilket tyder på att det borde göra avtryck hos valar också, av den orsaken att valar ackumulerar bland de högsta koncentrationerna av PCB. Trots att det inte finns tillräckligt mycket forskning på hur PCB påverkar valars fysiologiska välbefinnande (Jensen & Hahn

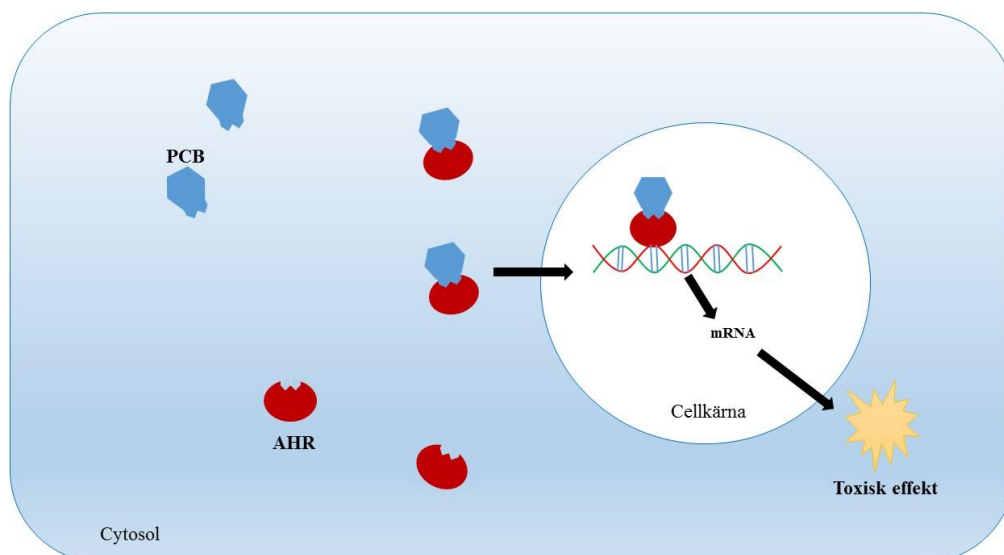
2001) är en hypotes att PCB påverkar valpopulationer negativt då det har observerats i andra modellorganismer som mink vilket kan appliceras på valar.

PCB inhiberade inte ägglossning, befruktning eller försämrar livmodern hos vanliga tumlare enligt en studie (Murphy *et al.* (2015). Liknande resultat togs fram i en studie på sadeldelfiner (*Delphinus delphis*) (Murphy *et al.* 2010). Däremot kan PCB försämma fosterutveckling och avkommans möjligheter för överlevnad hos honor utan kalv, eftersom honor utan kalv inte kan utsöndra koncentrationer av PCB genom mjölkutsöndring som honor med kalv kan. Valar har en begränsad förmåga att bryta ner PCB vilket gör att ansamling av PCBer utsätter valars fysiologiska välbefinnande för ännu större risker och utgör ett hot mot valpopulationerna (Ross *et al.* 2000). Givetvis påverkar en valars fysiologiska välbefinnande chansen för att reproducera sig, något som går att tillämpa hos de flesta däggdjur. Vid bra näringstillstånd och god fysiologiskt befinnande ökar chansen för reproduktion hos valar (Murphy *et al.* 2015).

Hämningar av det endokrina systemet

Fyra stycken olika hormonstörande organiska föreningar har hittats hos valar i Medelhavet, det är miljööstrogen, miljöandrogen, anti-östroger och anti-androgen. Anti-östroger och anti-androgen blockera bindningen för hormonerna östroger och androgen till deras receptorer medan miljööstrogen och miljöandrogen förändrar cell signaleringen (Fossi *et al.* 2003). Många hormonstörande kemikalier hämmar östrogens verkan i kroppen, vilket påverkar reproduktionsförmågan. Dessa kemikalier är skadliga för embryo- och fosterutvecklingen, då de kan hämma eller interagera med hormoner, tillväxten och signalsubstansen (Colborn 1998). PCB-153 är känt för att binda till östroger receptorer och påverkar dess effekt. Xenobiotiska ämnen kan påverka cellsignalering på olika sätt och de kan till exempel binda till östrogerreceptorer som redan är nämnt men även till aryl kolväte receptorer (AHR), vilket orsakar en överexponering av receptorn som ökar aktiviteten för cytokrom P450. Ökad aktivitet av cytokrom P450 påverkar i sin tur syntetisering av steroider.

Något som har påvisats är att plana PCB kongener uppvisar dioxin liknande mekanismer. Dioxiner är väldigt toxiska och kan framkalla cancer och fosterskador och ansamlas i fettvävnaden precis som PCBer. Plana PCBer kan utsöndrar toxiska effekter och en hypotes till det är att genom aktivera Aryl kolväte Receptorer (AHR) (Schwacke *et al.* 2002). AHR är ett protein som kodas av AHR-genen. AHR finns i alla celler och verkar genom att känna igen och binda till flera olika molekyler, vilket reglerar flera olika gener som i sin tur ökar produktionen av särskilda proteiner. Eftersom PCB är hydrofoba kan de diffundera över cellmembranet och binda till AHR i cytosolen, som sedan transporteras till cellkärnan och kan inducera förändringar i genuttryck (figur 2). Det är påvisat att när xenobiotiska ämnen som PCBer binder till AHR orsakar det en överaktivering av receptorn. En överaktivering av AHR skapar i sin tur obalans i hormonsystemet och orsakar allvarliga komplikationer (Bengtsson 2016). Forskning på vitvalar (*Delphinapterus leucas*) har visat att de har liknande AHR receptorer som har hittats i modellorganism som led av reproduktionssvårigheter på grund av plana PCBer, genom att plana PCBer förändrar AHRs verkan (Jensen & Hahn 2001). Eftersom AHR har upptäckts hos vitvalar finns möjligheten att de existerar hos andra valarter och de processer som sker *in vitro* hos modellorganismer bör kunna tillämpas på valar. Exempel på några PCBer som agerar via AHR är PCB-77 och PCB-126.



Figur 2. Xenobiotiska ämnen som PCB diffunderar över cellmembranet och binder till AHR i cytosolen. Sedan transporteras både AHR och PCB in till cellkärnan där PCB kan inducera förändringar i genuttryck vilket kan ge upphov till toxiska effekter hos organismen.

In vitro

Som redan nämnt är mink bland den bästa modellorganism för att försöka förstå hur valar påverkas av PCB. Fördelen med minkar är att de precis som valar är topp-predatorer. Mink är även ett djur som jagar och befinner sig i både akvatiska som terrestriala ekosystem. En försämrad reproduktionsförmåga hos minkar som har blivit utsatta för PCB kan bero på att dioxinen liknade PCBer nedreglerar receptorerna för östrogen i livmodern (Romkes *et al.* 1987). Detta stöds även av Patnode & Curtis (1994) som noterade att både PCB-153 och PCB-169 försämrade östrogens bindning till östrogenreceptorerna i cell kärnan hos minkar men PCBer påverkade inte bindningen till östrogenreceptorerna som finns i cytosolen.

PCB-inducerad embryotoxicitet försämrar avkommans chans för överlevnad. PCB har visats påverka fosterutvecklingen genom att signifikant minska fostrets vikt och tillväxt, vilket bidrar till en starkt förändrad fosterutveckling orsakad av PCB-169 (Patnode & Curtis 1994). Försämrad tillväxt kan orsakas av att progesteron inte kan binda till progesteronbindningen för att anti-progestin binder dit istället. Både PCB-153 och PCB-169 försämrar affiniteten till progesteronbindning för progesteron. Förändringar i progesterons bindning till progesteronsreceptorn i livmodern kan orsaka nedsatt syntetisering av viktiga protein och embryoutveckling. PCB kan även öka fostermortaliteten hos minkar genom att påverka tillgången av näring som transporteras genom blodkärlen i placentan och förändra det yttre cellskikten som omger det befruktade ägget, trofoblasten, vilket leder till utvecklingsstörningar hos fostret eller till fosterdöd (Backlin *et al.* 1998).

Inte nog med att PCB kan påverka det endokrina systemet, dessa föreningar kan även ha effekter på hypotalamus och hypofysen, som kontrollerar det endokrina systemet. Hypofysen är en endokrin körtel som påverkar syntetiseringen av hormoner. Både gonadotropin-utsöndrade hormon (gonadotropin-releasing hormone, GnRH) och 17β -östrogen (E2) är viktiga hormoner som kontrollerar att rätt mängd gonadotropin utsöndras för att ägglossning ska kunna ske. Genom att vissa östrogen-liknade PCBer kan hämma och binda till E2 receptorer kan det inhibera ägglossning hos en organism (Huckle *et al.* 1988).

Oxytocin

Oxytocin är ett viktigt hormon som är delaktigt i könsmognaden och vid ägglossningen hos en organism (Tallam *et al.* 2000). Utsöndring av hormonet oxytocin från granulosa cellerna som omger oocyten är beroende av östrogen. Överstimulering av syntetiseringen av oxytocin kan försämra äggstockarnas och livmordens funktion genom att rubba östrogencykeln och öka risken för infertilitet (Thatcher *et al.* 1994). En studie gjord av Mlynarczuk *et al.* (2009) kom fram till att PCBer kan öka utsöndring av oxytocin i äggstockarna. Det sker genom att PCB stimulerar transkriptionen av NP-I/OT, vilket är en gen som ansvarar för syntetiseringen av oxytocin prekursorer. Ökad mängd mRNA aktiverar enzymet PGA som reglerar post-translationella modifieringar av syntetisering av oxytocin (Ivell 1999). En förhöjd koncentration av oxytocin i follikelvätskan kan rubba ägglossningen och orsaka cystor i äggstockarna (Einspanier *et al.* 1997, Bosu *et al.* 1987).

Åtgärder

För att få kunskap om hur PCB påverkar valpopulationer krävs betydligt mer forskning och forskningsmetoden om späckanalyser från levande valar kan behövas utvecklas. Det skulle behövas mer forskning på valar både innan och efter de har kommit i kontakt med PCB för att kunna analysera ifall reproduktionsförmågan påverkas och i sådana fall hur.

Idag jobbades det aktivt med bevarandearbete för valar. Bland annat har märkning, spårning med hjälp av sändare och fotografiska tekniker underlättat bevarandearbetet (Hall *et al.* 2006). Genom att kunna spåra vissa populationer och få grafiska bilder över dem kan man följa honors reproduktionshistoria och få reda på när honor har kalvar och kalvens överlevnadsförmåga (Wells 2003). I Sverige jobbas det flitigt med att förbättra valars status som befinner sig i omkring Sveriges kuster och framför allt i Östersjön. Framför allt så läggs mycket fokus på att bevara tumlare i Östersjön eftersom det endast finns en tumlarpopulation kvar i havet. Sverige satsar stort på bevarandet av tumlare och tänker finansiera närmare 37 miljoner kronor i arbetet. Då åtgärder som bland annat rensning av spökgarn och nya utvecklade torskburar som ska vara både säl och tumlarsäkra ska tas fram, vilket är av högsta prioritering. Många fler åtgärder ska göras och allt detta går att läsa om i Naturvårdsverket åtgärdsprogram för tumlare (Carlström *et al.* 2008).

Diskussion

En valns livshistoria spelar in i hur mycket PCB som ansamlas i späcket. Av den orsaken att valar som befinner sig i hav som omges av industritäta länder med större populationer av människor utsätts för högre koncentrationer av PCB jämfört med mindre kontaminerade hav. Detta eftersom industrier släpper ut miljögifter som ansamlas i närliggande omgivningar. Speciellt utsatta blir de valar som befinner sig i Medelhavet, Nordsjön och Östersjön eftersom dessa hav påverkas kraftigt av antropogena aktiviteter. Inte bara spelar en vals geografiska habitat in i hur mycket PCB som ansamlas, utan även kön påverkar. Då honor generellt sätt har lägre koncentrationer av PCB än hanar, eftersom honor kan utsöndra PCB via mjölken när honan har en kalv som diar. Problematiken är att PCB koncentrationerna hos honor minskar men det ackumuleras istället hos deras avkommor, vilket resulterar i högre kalvmortalitet. Detta gäller så länge som honor är köns mogna, när de upphör vara det börjar de ansamlas koncentrationer av PCB som då aldrig kommer att minska. Det är därför som man även kan se att koncentrationer av PCB ökar med stigande ålder hos valar.

Vanligtvis baseras forskningen inom valar på strandande valar, dels för att det är svårt att bedriva forskning på levande och vilda valar utan att skada dem. Sedan är ytterligare ett problem att hitta olika valpopulationer om det inte finns sändare. Studier baserad på strandade valar kan skapa en riktad forskning som visar upp ett resultat som inte är tillämpligt på hela valpopulationer, då en val ofta blir strandad på grund av att den är sjuk. Forskningen som då tas fram är svår att applicera på hela valpopulationen och forskningen blir då riktad mot ett icke slumpmässigt utplockning av valar. Forskning bedriven på sjuka valar ger inte en överblick över hur det ser ut med till exempel PCB koncentrationer hos de valar som bedöms vara "friska". Eftersom de flesta proverna på strandade valar har PCB-koncentrationer utöver tröskelvärdet medan det är svårt att veta vilka mängder en frisk val har ansamlat.

Att valpopulationer har minskat har haft mycket med att göra att det har varit jakt på då dem. Bland annat så minskade tumlare kraftigt i antal under 1900-talet på grund av den orsaken men i dagläget har jakt avtagit allt mer även fast det fortfarande sker på vissa arter men inte på tumlare. Därpå har storskaligt fiske på valars föda bidragit till reduceringen och som nämnt tidigare fastnar vissa valar i dessa fiskenät. Sedan bidrar antropogena faktorer som bland annat båtbuller och utsläpp av miljögifter till reducering av valpopulationer. Miljögifter har visat sig ha en stor inverkan på valpopulationer, då de kan orsaka flera olika fysiologiska skillnader och inte bara påverka reproduktionsförmågan (Murphy *et al.* 2015). Miljögifter som PCB gör att valar blir mer mottagliga för infektioner, virus och löper större risk för cancer och tumörer. En försämrad reproduktionsförmåga har stora effekter på valar, eftersom reproduktion är den enda möjligheten till att bevara valpopulationer. Det går inte att säga att en orsak är den enda bidragande faktorn till reduceringen av antalet valar utan jag tror att det är flertaliga faktorer som tillsammans bidrar till minskningen. Även fast det finns flera faktorer som spelar in bör man inte ignorera PCB inverkan i och med att de bidrar till vitala förändringar på reproduktionssystemet.

Det finns mycket mer forskning på bieffekterna av förhöjda koncentrationer av PCB i andra arter än valar, där man har undersökt hur bland annat minkar och människor påverkas av detta. Hur människor påverkas är betydligt mer väl studerat och effekterna på minkar börjas också kartläggas. Den forskning på hur PCB påverkar valar tyder allt mer på att PCB bidrar till allvarliga fysiologiska skillnader. Sedan finns det även forskningsresultat som är motsägelsefull. Viss forskning tyder på att PCB orsakar reproduktionssvårigheter medan annan forskning hänvisar motsatsen. Dock saknas det fortfarande tillräckligt mycket forskning inom området men man kan tänka sig att PCB bör fungera liknade hos minkar som valar. Trots att valar och minkar inte är nära släkt har de ändå mycket gemensamt. De båda är toppkonsumenter och jagar föda i marina miljöer. Genom att studera minkar kan man få en ökad förståelse över hur PCB påverkar valar. De upptäckta AHR-receptorer hos vitvalar tyder ännu mer på att de studier som har gjorts på minkar bör kunna tillämpas på valpopulationer, eftersom minkar bär på dessa receptorer också. Sedan bör AHR finnas hos flera valar eftersom de finns hos vitvalar, av den orsaken att ordningen Cetacea har likande fysiologiska strukturer.

Tack

Jag vill tacka min handledare Stefan Bertilsson för vägledning under arbetets gång. Dessutom vill jag ägna ett tack till mina kollegor Minna Andersson, Anna Broberg, Caroline Lönnqvist och Linn Syding för konsekvent kritik och nya synvinklar. Ett speciellt tack till Alexander Valen Fransson, Moa Nordin och Erik Widén för trevligt sällskap och många skratt under projektets gång.

Referenser

- Backlin BM, Persson E, Jones CJP, Dantzer V. 1998. Polychlorinated biphenyl (PCB) exposure produces placental vascular and trophoblastic lesions in the mink (*Mustela vison*): a light and electron microscopic study. *Apmis* **106**: 785–799.
- Bengtsson J. 2016. The impact of cytochrome P4501-inhibitors on aryl hydrocarbon receptors signaling. Department of Molecular Biosciences, The Wenner-Gren Institute, Stockholm University.
- Barsotti DA, Marlar RJ, Allen JR. 1976. Reproductive dysfunction in rhesus monkeys exposed to low levels of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1248). *Food and Cosmetics Toxicology* **14**: 99–103.
- Bergman A. 2007. Pathological changes in seals in Swedish waters: the relation to environmental pollution. WWW-dokument 2007-: <http://pub.epsilon.slu.se/1681/>. Hämtad 2016-04-13.
- Bosu WTK, Peter AT. 1987 Evidence of a role on intrauterine infections in the pathogenesis of cystic ovaries in postpartum dairy cows. *Theriogenology* **28**: 725–36.
- Bredhult C, Backlin B-M, Bignert A, Olovsson M. 2008. Study of the relation between the incidence of uterine leiomyomas and the concentrations of PCB and DDT in Baltic gray seals. *Reproductive Toxicology* **25**: 247–255.
- Carlström J, Rappe C, Kögnigson S. 2008 Åtgärdsprogram för tumlare 2008 - 2013. Rapport 5846.
- Colborn, T. 1998. Building scientific consensus on endocrine disruptors. *Environ. Toxicol. Chem.* **17**: 1–2.
- Einspanier A, Jurdzinski A, Hodges JK. 1997. A local oxytocin system is part of the luteinization process in the preovulatory follicle of the marmoset monkey (*Callithrix jacchus*). *Biol Reprod.* **57**: 16–26.
- Folland WR, Newsted JL, Fitzgerald SD, Fuchsman PC, Bradley PW, Kern J, Kannan K, Remington RE, Zwiernik MJ. 2016. Growth and reproductive effects from dietary exposure to Aroclor 1268 in mink (*Neovison vison*), a surrogate model for marine mammals. *Environmental Toxicology and Chemistry* **35**: 604–618.
- Fossi MC, Marsili L, Neri G, Natoli A, Politi E, Panigada S. 2003. The use of a non-lethal tool for evaluating toxicological hazard of organochlorine contaminants in Mediterranean cetaceans: new data 10 years after the first paper published in MPB. *Marine Pollution Bulletin* **46**: 972–982.
- Hall AJ, McConnell BJ, Rowles TK, Aguilar A, Borrell A, Schwacke L, Reijnders PJH, Wells RS. 2006. Individual-based model framework to assess population consequences of polychlorinated biphenyl exposure in bottlenose dolphins. *Environ Health Perspect* **114**: 60–64.
- Helle E, Olsson M, Jensen S. 1976. PCB Levels Correlated with Pathological Changes in Seal Uteri. *Ambio* **5**: 261–262.
- Huckle WR, Conn PM. 1988. Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone action. II. The effector system. *Endocrinol Rev* **9**: 387-395.
- Ivell R. 1999. The physiology of ovarian oxytocin. *Reprod Med Rev* **7**: 11–25.
- Jensen BA, Hahn ME. 2001. cDNA cloning and characterization of a high affinity aryl hydrocarbon receptor in a cetacean, the beluga, *Delphinapterus leucas*. *Toxicol Sci* **64**: 41–56.
- Jepson PD, Deaville R, Barber JL, Aguilar A, Borrell A, Murphy S, Barry J, Brownlow A, Barnett J, Berrow S, Cunningham AA, Davison NJ, ten Doeschate M, Esteban R, Ferreira M, Foote AD, Genov T, Gimenez J, Loveridge J, Llavona A, Martin V, Maxwell DL, Papachlimitzou A, Penrose R, Perkins MW, Smith B, de Stephanis R,

- Tregenza N, Verborgh P, Fernandez A, Law RJ. 2016. PCB pollution continues to impact populations of orcas and other dolphins in European waters. *Scientific Reports* **6**: 18573.
- Kerkvliet NI. 1995. Immunological effects of chlorinated dibenzo-p-dioxins. *Environ Health Perspect* **103**: 47–53.
- Lavandier R, Areas J, Dias PS, Taniguchi S, Montone R, de Moura JF, Quinete N, Siciliano S, Moreira I. 2015. An assessment of PCB and PBDE contamination in two tropical dolphin species from the Southeastern Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin* **101**: 947–953.
- Lee K-T, Tanabe S, Koh C-H. 2001. Contamination of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) in Sediments from Kyeonggi Bay and Nearby Areas, Korea. *Marine Pollution Bulletin* **42**: 273–279.
- Martineau D, Lemberger K, Dallaire A, Michel P, Beland P, Labelle P, Lipscomb TP. 2003. Cancer in Beluga: Response. *Environmental Health Perspectives* **111**: A78–A79.
- Mlynarczuk J, Wrobel MH, Kotwica J. 2009. The influence of polychlorinated biphenyls (PCBs), dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and its metabolite—dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) on mRNA expression for NP-I/OT and PGA, involved in oxytocin synthesis in bovine granulosa and luteal cells. *Reproductive Toxicology* **28**: 354–358.
- Murphy S, Barber JL, Learmonth JA, Read FL, Deaville R, Perkins MW, Brownlow A, Davison N, Penrose R, Pierce GJ, Law RJ, Jepson PD. 2015. Reproductive Failure in UK Harbour Porpoises *Phocoena phocoena*: Legacy of Pollutant Exposure? *Plos One* **10**: e0131085.
- Murphy S, González ÁF, Guerra Á. 2010. Assessing the effect of persistent organic pollutants on reproductive activity in common dolphins and harbour porpoises.
- Patnode KA, Curtis LR. 1994. 2,2',4,4',5,5'- and 3,3',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl alteration of uterine progesterone and estrogen receptors coincides with embryotoxicity in mink (*Mustela vison*). *Toxicol Appl Pharmacol* **127**: 9–18.
- Romkes M, Piskorska-Pliszczynska J, Safe S. 1987. Effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on hepatic and uterine estrogen receptor levels in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology* **87**: 306–314.
- Ross P., Ellis G., Ikonomou M., Barrett-Lennard L., Addison R. 2000. High PCB Concentrations in Free-Ranging Pacific Killer Whales, *Orcinus orca*: Effects of Age, Sex and Dietary Preference. *Marine Pollution Bulletin* **40**: 504–515.
- Schwacke LH, Voit EO, Hansen LJ, Wells RS, Mitchum GB, Hohn AA, Fair PA. 2002. Probabilistic risk assessment of reproductive effects of polychlorinated biphenyls on bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the southeast United States coast. *Environ Toxicol Chem* **21**: 2752–2764.
- Siebert U, Tolley K, Víkingsson GA, Olafsdottir D, Lehnert K, Weiss R, Baumgärtner W. 2006. Pathological findings in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from Norwegian and Icelandic waters. *J Comp Pathol* **134**: 134–142.
- Siebert U, Wünschmann A, Weiss R, Frank H, Benke H, Frese K. 2001. Post-mortem findings in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the German North and Baltic Seas. *J Comp Pathol* **124**: 102–114.
- Storelli MM, Barone G, Giacomini-Stuffler R, Marcotrigiano GO. 2012. Contamination by polychlorinated biphenyls (PCBs) in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Southeastern Mediterranean Sea. *Environ Monit Assess* **184**: 5797–5805.
- Sundqvist KL, Wiberg K. 2013. Karakterisering av PCB och PCDD/F i Östersjöns ytsediment. Naturvårdsverket.
- Tallam SK, Walton JS, Johnson WH. 2000. Effects of oxytocin on follicular development

- and duration of the estrous cycle in heifers. *Theriogenology* **53**: 951–62.
- Tanabe S. 1988. Toxic Substance in the Environment PCB problems in the future: Foresight from current knowledge. *Environmental Pollution* **50**: 5–28.
- Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B, Schmitt E-P. 1994. Embryohealth and mortality in sheep and cattle. *J Anim Sci* **72**: 16–30.
- Wells RS. 2003. Dolphin social complexity: lessons from long-term study and life history. In: *Animal Social Complexity: Intelligence, Culture, and Individualized Societies*. (de Waal FBM, Tyack PL, eds). Cambridge, MA:Harvard University Press, 35–56.
- Wells RS, Tornero V, Borrell A, Aguilar A, Rowles TK, Rhinehart HL, Hofmann S, Jarman WM, Hohn AA, Sweeney JC. 2005. Integrating potential life-history and reproductive success data to examine relationships with organochlorine compounds for bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Sarasota Bay, Florida. *Science of the Total Environment* **349**: 106–119.
- White R, Jobling S, Hoare S, Sumpter J, Parker M. 1994. Environmentally Persistent Alkylphenolic Compounds Are Estrogenic. *Endocrinology* **135**: 175–182.
- Wolkers H, Corkeron PT, Van Parijs SM, Simila T, Van Bavel B. 2007. Accumulation and transfer of contaminants in killer whales (*Orcinus orca*) from norway: Indications for contaminant metabolism. *Environmental Toxicology and Chemistry* **26**: 1582–1590.

Utgör PCB ett hot mot valpopulationer?: etikbilaga

Ellinor Berkelind

Självständigt arbete i biologi 2016

Etik

Forskningsetik

Från början hade jag tänkt inrikta mig på hur PCB påverkar tummlarpopulationer då jag kom över en väldigt intressant originalartikel om det. Dock blev det ett smalt spår så jag valde därför att bredda upp ämnet och fokuserade på hur PCB påverkar valpopulationer istället. Under arbetets gång började jag med att läsa in mig på peer review artiklar om ämnet och för att hitta bra originalartiklar från dem. Jag har mestadels använt mig av Web of Science för att leta originalartiklar men även använt Research gate, Google Scholar och National Center for Biotechnology Information, NCBI. Jag har varit noggrann med att använda tillförlitliga källor och med att källhänvisa. Mina egna åsikter har framgått tydligt i texten.

Samhällets hantering

PCB är miljöfarliga ämnen som har en långsam nedbrytningsprocess. Det är en antropogen framtagning och användes i stora mängder i industrier under 1900-talet. Det har sedan läckt ut i miljön på grund av oförsiktig hantering, bristande kunskaper om hur ämnena ska hanteras och vilka konsekvenser läckage av PCB kan bidra till. Då konsekvenserna uppmärksammade förbjöds användningen av PCB men ämnet finns fortfarande kvar i vissa elektroniska apparater. Eftersom utsläpp av PCB är framtaget av industrier har industrisamhället ett ansvar att åtgärda och förhindra skadorna. Läckage av PCB är redan så långt gången att det kan vara svårt att stoppa det, då det redan har hunnit ackumuleras i sediment och organismer. Vad som kan göras är att förhindra framtida utsläpp och få en ökad kunskap om hur miljöfarliga ämnen som till exempel PCB ska hanteras för att undvika skador på miljö och organismer.

Forskningsmetodik

Mesta dels av den forskning som bedrivs på valar är baserad på strandade valar. Problemet är bara den att det oftast är de sjuka valarna som strandas och inte friska. Detta tog jag upp i diskussionen i min uppsats och bifogar här med mitt argument angående det:

Vanligtvis baseras forskningen inom valar på strandade valar som har omkommit på grund av olika anledningar, det kan orsakas av allt från sjukdomar, miljögifter till svält. Mycket av forskningen baseras på strandade valar dels för att det är svårt att bedriva forskning på levande och vilda valar utan att skada dem, eftersom det krävs analyser på späck och organ för att ta reda på hur PCB påverkar valar. Att bedriva mestadels av forskningen på strandade valar kan skapa en riktad forskning som visar upp ett resultat som inte är tillämpligt på hela valpopulationerna, då en val ofta blir strandad på grund av att den är sjuk. Forskningen som då tas fram är svår att applicera på hela valpopulationen och forskningen blir då riktad mot ett icke slumpmässigt utplockning av valar. Forskning bedriven på sjuka valar ger inte en överblick över PCB koncentrationerna hos de valar som bedöms vara "friska". Eftersom de flesta proverna på strandade valar har PCB-koncentrationer över tröskelvärde medan det är svårt att veta vilka mängder en frisk val ansamlar.