Fakta fra HAVBRUK

Forskningsrådet

Program
HAVBRUK – en næring i vekst

Prosjekt:

Toxicological evaluation of toxaphene in fish feed

v/Anne-Katrine Lundebye Haldorsen, NIFES

Toksafen i fôret reduserer vekst hos laks

Prosjektet undersøkte omsetning og giftighet av forskjellige forbindelser av pesticidet toksafen. Resultatene viser at giftighet av forskjellige toksafenkongenerer ikke er relatert til antall kloratomer. Et annet viktig funn er effekten av toksafen på stoffskiftet hos laks. I prosjektet er det generert kunnskap som er viktig for fremtidig risikovurdering av toksafen. Resultatene støtter ikke en revidering av EUs øvre grenseverdi for toksafen i fiskefôr.

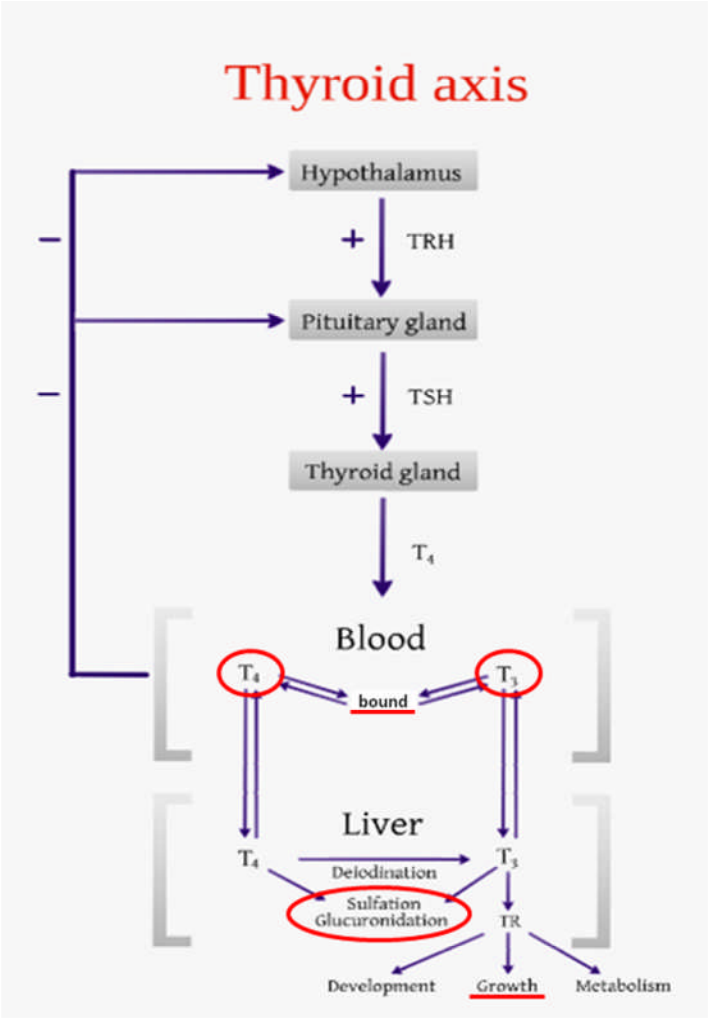
Bakgrunn og mål

Målet med dette prosjektet var å studere omsetning og giftighet av forskjellige toksafenforbindelser. Fra 1970-årene var toksafen et av de mest brukte pesticidene på verdensbasis som erstatning for DDT, men bruken er nå utfaset i de fleste land. Toksafen består av mange forskjellige kjemiske former, så kaldt kongenere. Tre av disse kongenere, 26, 50 & 62 (CHB3) er brukt som indikatorkongener for miljøforurensing, og det er vanlig at disse måles i prøver fra miljøet samt i matvarer. I tillegg til disse 3 kongenere, anbefalte Europeiske mattilsynet (European Food Safety Authority) også å inkludere kongenere 40, 41, 42 og 44 (CHB4) siden disse er funnet i forhøyete nivåer i fisk, men det mangler kunnskap om nivåer og giftigheten av disse forbindelsene. Derfor ble dette prosjektet gjennomført.

Resultater

To fôringsforsøk har vært gjennomført med fisk i dette prosjektet, en studie med de "rene" toksafenforbindelsene 26, 50 & 62 (CHB3) i sebrafisk og et storskalaforsøk med teknisk toksafen hos laks. Forsøket med sebrafisk ble gjennomført for å undersøke biotransformasjon av toksafen. Det viste seg at mye (opp til 25 %) av kongener 44 i filet stammer fra biotransformasjon av kongenere 62 til 44, og at en del av kongener 40+41 stammer fra biotransformasjon av 50. Dette ble også undersøkt i laks, i tillegg til at giftigheten av disse forskjellige forbindelsene ble kartlagt. Resultatene fra sebrafisk-forsøket viste at CHB4 og CHB3 omtrent var like giftige. Forsøket med laks var for å evaluere overføring av pesticidet toksafen fra fôr til fiskefilet og giftighet hos laksen, og dermed effekt på mattrygghet og fiskehelse. Duplikatgrupper med laks ble eksponert til en av fire nivåer av teknisk toksafen i fôret, enten kontrollfôr 0,5 mg/kg, 5 mg/kg eller 50 mg/kg. Dette tilsvarte konsentrasjoner av CHB3 i fôret: 0,002 mg/kg (kontroll), 0,006 mg/kg (tilsvarende gjeldende EUs øvre grenseverdi, 0,005 mg/kg) , 0,040 mg/kg eller 0,51 mg/kg. Eksponeringen til CHB3 i dette forsøket kan ikke direkte sammenlignes med eksponering i naturen siden toksafen brytes ned og andel og sammensetning av toksafenkongenere kan være forskjellig.

Resultatene viser at toksafen i laks omdannes til en forbindelse med færre kloratomer, og kongene 62 blir omdannet til 44 som akkumuleres i filet, mens kongene 50 sannsynligvis ikke blir deklorinert til 40+41. Resultatene viser også at toksafen i fôret til laks påvirket laksens evne til å produsere skjoldbruskkjertelhormonet trijodtyronin som er viktige for stoffskiftet. Deiodinase I (D1) er det mest viktige enzymet for omdannelse av hormonet tyroksin til trijodtyronin som har en sentral rolle i en rekke fysiologiske prosesser, inkludert vekst. Toxafeneksponering førte til redusert nivå av D1-genuttryk i lever og trijodtyronin i plasma og reduserte også laksens vekst. Det var ingen forskjeller mellom gruppene i alpha-MSH og kortisolnivåer i plasma så nedgangen i vekst hos fisken skylles hverken sult (alpha-MSH som markør) eller stress (kortisol som markør). Den direkte effekten av toksafen på enzymet D1 ble verifisert ved å undersøke genuttrykk i eksponerte leverceller. Effektene av toksafen på tyroidaksen er vist i Figur 1.



Figur 1: Tyroidaksen og mulige steder som toksafen har innvirkning (røde sirkler og linjer). Hormon TRH stimulerer produksjon av hormonet TSH som får skjoldbruskkjertelen til å frigi T4 til blodomløpet hvor det binder seg til proteiner (THBP). Toksafen kan også binde seg til THBP og bytte ut tyroidhormoner (THs). Ubundet THs konjugeres og fjernes raskt fra blodet. Dette kan fore til økt utskillelse av T4 fra skjoldbruskkjertelen for å kompensere for tap av T4 (som vi så i fisken som fikk den laveste toksafenfôret), og over tid en senkning i plasma T3-nivåer (som i fisken ga de to høyeste toksafennivåene). T3 er et viktig hormon i reguleringen av utvikling, metabolisme og vekst.

Det er ikke tidligere vist at toxafenkongenere kan transformeres i fisk til former med mindre klor og at disse lagres i filet, tidligere er omdanning kun påvist i sedimenter og anærobe bakterier. En nedgang i CHB3-toxafennivåer i fisk kan tolkes som redusert eksponering for toksafen, men det kan være på grunn av transformasjon til CHB4-former med mindre klor som ikke inkluderes i standardanalyser. Resultatene viser at giftighet av forskjellige toksafenkongenerer ikke er relatert til antall kloratomer. Et annet funn er at dose ikke er avhengig av effekten av toksafen på stoffskiftet hos laks. Det var negativ effekt på plasma i skjoldbruskkjertelhormonet T4 ved det laveste CHB3-eksponeringsnivået (den gjeldende øvre grenseverdi for toksafen i fôr), men ingen effekt på vekst ved denne konsentrasjon. Det var redusert nivå av skjoldbruskkjertelhormonet T3 og vekst hos laks eksponert for 5 mg/kg toksafen. Nivået av CHB3 i teknisk toksafen tilsvarer cirka 1 % av total toksafen i fôret i lakseforsøket, mens i fisk og fiskeolje bidro CHB3 med 25 % -33 % av den totale toksafen. I tillegg inneholder den tekniske toksafenblandingen brukt i lakseforsøket, kongenere som ikke finnes i miljøet. Dermed kan ikke resultatene fra lakseforsøket tolkes som effektnivåer basert på CHB3-konsentrasjoner. Resultatene er brukt til å modellere opptak og utskillelse av de forskjellige kjemiske formene for toksafen i laks.

Et viktig funn er effekten av toksafen på stoffskiftet hos laks. Det var effekter på skjoldkjertelhormonene T4 ved det laveste eksponeringsnivået, men ingen effekt på vekst. Denne effekten kan være adaptiv i motsetning til skadelig fordi det viktigste skjoldkjertelhormonet T3 ikke var påvirket. T3 var lavere i fiskefôr med 5 mg teknisk toksafen/kg og var korrelert med redusert vekst hos laks.

Nytteverdi og anvendelse

I prosjektet er det generert kunnskap som er viktig for fremtidig risikovurdering av toksafen. Resultatene støtter ikke en revidering av EUs øvre grenseverdi for toksafen i fiskefôr. Øvre grenseverdier for uønskede stoffer i fiskefôr har en viktig betydning for rammebetingelsene til fôr- og oppdrettsnæringen.

Annen relevant informasjon

Formidling:
Artikkel:
Berntssen, M.H.G., Lundebye, A.-K., Hop-Johannessen, L., Lock, E.-J. (2012) Dechlorination of the dietary nona-chlorinated toxaphene congener 62 and 50 into the octa-chlorinated toxaphene congeners 44 and 40 in zebrafish (*Danio rerio*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquatic Toxicology, 112-113; 54-61.

Lock, E.-J, De Gelder, S., Metz, J., Klaren, P.H.M., Olsvik, P.A., Flik, G., Lundebye, A.-K., Berntssen, M.H.G. Specific disruption of thyroid physiology in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by organohalogen compounds. Submitted.

Presentasjon:
Lock, E.-J., De Gelder, S., Klaren, P.H.M., Olsvik, P.A., Lundebye, A.-K., Berntssen, M.H.G. Specific disruption of thyroid physiology in Atlantic salmon (*Salmo salar*) by organohalogen compounds. CESP2012, Kerala, India, invited speaker.

Godkjente presentasjoner:
Lock E.-J., Berntssen M.H.G., Olsvik P.A., Lundebye, A.-K. Effekter av pesticidet toksafen i fôr på stoffskifte hos fisk. Havbruk 2012, 16.-18. april 2012, Stavanger.

Lock E.-J., Lundebye A.-K., Berntssen, M.H.G. Dechlorination and carry-over of nona-chlorinated toxaphene into octa-chlorinated toxaphene. ISFNF2012, 4.-7. juni 2012, Molde.

Master thesis:
De Gelder, S. POP specific disruption of the thyroid axis in Atlantic salmon (*Salmo salar*). February 2012. Radboud Universitet, Nijmegen, Nederland.

Om prosjektet

Prosjekttittel: Toxicological evaluation of toxaphene in fish feed		
Institusjon: NIFES	Prosjektleder: Anne-Katrine Lundebye Haldorsen	Prosjektperiode: 01.01.09–31.12.11
Kontaktperson: Anne-Katrine Lundebye Haldorsen, NIFES, 481 85 033 aha@nifes.no	Samarbeidspartnere: Universitetet i Plymouth, England og Radboud universitet i Nijmegen, Nederland	Lenker: www.nifes.no
Bevilget beløp: kr 3 200 000		