

# Hunnsnegl med penis og hannfisk med egg

ANDERS GOKSØYR

I snart hundre år har vi mennesker spredd stoffer i naturen som kan forårsake hormonelt kaos i organismer og føre til forunderlige effekter som påtvunget kjønn og andre kjønnsforstyrrelser. Men effektene kom langsomt og snikende. For femti år siden ble et fenomen kalt imposex oppdaget hos snegler som levde i og nær båthavner, der en kjemisk forbindelse i bunnstoffet på båtene førte til at hunnsneglene utviklet en penis. Senere ble det oppdaget hannfisk med rogn i britiske elver og alligatorer i innsjøer i Florida som hadde problemer med størrelsen på kjønnsorganet.

Vannlevende organismer er mest utsatt, siden alt vi slipper ut til slutt havner der. Ulike kjemiske forbindelser med hormonforstyrrende virkning i direkte tilførsler, avrenning og utslipp fra kloakkrenseanlegg og industri er årsaken til problemene. Disse kjønnsforstyrrelsesfenomenene er blitt brukt til å utvikle følsomme metoder for miljøovervåking av vassdrag, kyst- og havområder, men bedre regulering trengs!

### Påtvunget kjønn hos purpursnegl

Arcachon-bukten på den franske Atlanterhavskysten, vest for Bordeaux, er en grunn tidevannslagune perfekt for østersdyrking. Men det er også et gunstig sted å fortøye fritidsbåter og små fiskebåter, med god beskyttelse og kort vei til havet. En rekke marinaer omkranset etter hvert bukten, og antallet båter steg kraftig til et maksimum på 15 000 båter rundt 1980. Da hadde allerede østerspopulasjonen vist tegn til kollaps i mange år, og flere forskere, østersdyrkere og andre begynte å ane en sammenheng mellom båttrafikken og problemene.

Østersborer (*Ocenebra erinacea*) er en purpursnegl-art som, som navnet sier, lever av å bore seg gjennom østersskallet og spise østers. I 1970 ble et fenomen som kalles imposex for første gang påvist hos denne sneglearten i Arcachon-bukten. Ettersom østersboreren er en pest og en plage for østersdyrkere, var man ikke veldig bekymret når denne arten begynte

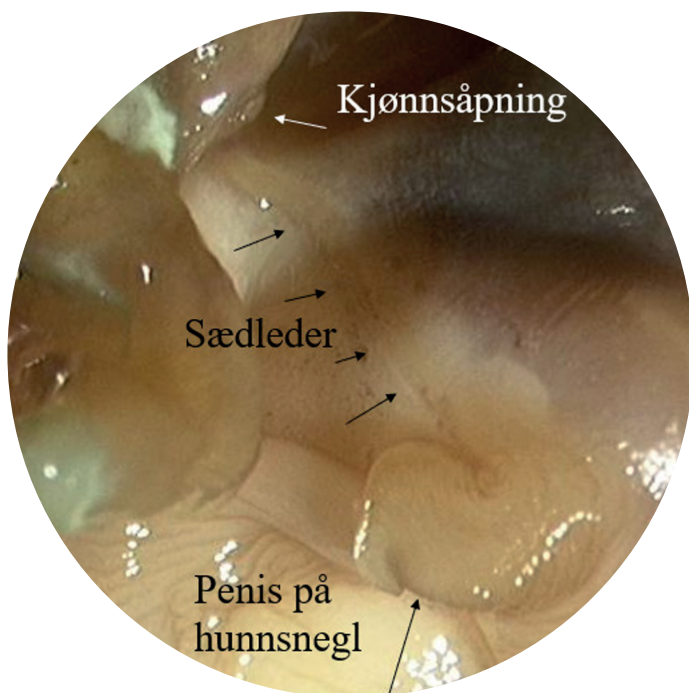
Fig. 1 | Purpursnegl (*Nucella lapillus*) er en av de mest følsomme artene for tributyltinn (TBT).  
Foto: Lise Ann Tveiten, NIVA.



å forsvinne fra området utover på 1970-tallet. Men når også østersproduksjonen gikk nedover, ble bekymringen større. Snart ble det klart at stoffet tributyltinn (TBT), som ga et svært effektivt, groehindrende bunnstoff til båter, var den sannsynlige årsaken både til imposex hos østersboreren, og til nedgangen i østersbestanden.

Imposex er en irreversibel kjønnsforstyrrelse som oppstår i visse sneglearter, der hunnsneglen utvikler hannlige kjønnsorganer som sædleder (*vas deferens*) og penis som ikke er funksjonelle. Dette kalles også pseudohermafroditisme eller uekte hermafroditisme. Begrepet imposex kommer fra «imposed sex», eller «påtvunget kjønn». I ekstreme tilfeller blokkerer de hannlige kjønnsorganene for hunnens eggleder, noe som gjør sneglen steril og kan føre til at sneglen dør. Dette kan føre til nedgang og i noen tilfeller til utryddelse av lokale bestander.

Blant alle snegleartene som er undersøkt for imposex, ser ulike arter av purpursnegl ut til å være de mest følsomme, med effekter på unge hunnsnegl ved TBT-konsentrasjoner så lavt som 1 ng/liter i sjøvann. Purpursnegl er relativt vanlig i bølgeeksponerte hardbunnsområder i tidevannssonen. De beiter på rur, blåskjell og andre snegler. Purpursneglen kan leve i 5-10 år og legger eggene sine på overflater av stein. Larvene utvikler seg direkte uten noe pelagisk stadium, og rekruttering er derfor avhengig av den lokale populasjo-



nens forplantningsevne. Dermed kan populasjoner kollapse dersom imposex-effekten blir alvorlig nok. Dette kan skje allerede ved en TBT-konsentrasjon på 5 ng/liter.

I strandsnegl (*Littorina littorea*) forårsaker TBT en annen type kjønnsforstyrrelse kalt intersex. Her utvikler de hunnlige kjønnsorganene seg til ulike mellomstadier som ligner på hannlige kjønnsorganer. Disse blir også sterile og ute av stand til å legge egg, men konsekvensene av denne effekten på strandsneglbestandene er mindre, siden denne arten har et planktonisk larvestadium. Rekruttering til et område kan dermed skje fra andre nærliggende bestander.

Mekanismen bak imposex ble opprinnelig knyttet til en mulig hemming av det enzymet som omdanner det hannlige kjønns hormonet testosteron til det hunnlige kjønns hormonet østradiol. Dette enzymet heter aromatase, og det er kjent fra virveldyr at en hemming av dette enzymet kan føre til opphopning av testosteron og en påfølgende maskulinisering [1]. Men andre hypoteser ble også lansert, blant annet at TBT kunne hemme frisettingen av et peptidhormon som er ansvarlig for å stoppe utviklingen av penis i hunnsnegl. Samtidig er det vist at TBT har en sterk evne til å binde til et reseptorprotein som kalles retinoid X reseptor, eller RXR. Dette er en transkripsjonsfaktor som er involvert i å regulere genuttrykk i en lang rekke fysiologiske prosesser i organismen. En mulig mekanisme kan dermed være via påvirkning av RXR-reseptoren. Etter som genomet til flere sneglearter ble kartlagt, ble det klart at disse artene ikke har genet for aromatase, og dermed er aromatase-hypotesen lagt til side. Fortsatt er altså mekanismen bak imposex-fenomenet ikke helt klarlagt.

### Hannfisk med egg

Det finnes mer enn 30 000 fiskearter i verdens hav, elver og innsjøer, og de utviser et stort repertoar av måter å bli kjønnsmoden på. Noen fisker gjennomgår et kjønnskifte som en normal del av kjønnsmodningen, ofte sosialt styrt, der noen er hunner først som så blir til hanner (som leppefisken rødnebb som blir til blåstål, *Labrus bimaculatus*). Andre er hannfisk først, og blir deretter hunner. Noen arter utvikler seg tilogmed til ekte hermafroditter, altså tvekjønnete individer med gonader som inneholder både hunnlige og hannlige deler. Hos andre arter kan temperatur påvirke kjønnsutviklingen. Hos sebrafisk (*Danio rerio*) blir for eksempel andelen egg som utvikler seg til hannfisk større når temperaturen øker. Disse tilpasningene gjør fisk i stand til å optimalisere



Fig. 3 | Karpfisken mort (*Rutilus rutilus*) var en av de første artene som viste tegn på kjønnsforstyrrelser i britiske elver, da sportsfiskere oppdaget tvekjønnete individer rundt 1980 i elven Themsen. Foto: Colourbox.

reproduksjonen under ulike miljøbetingelser og illustrerer hvor lett kjønn kan påvirkes hos noen arter.

Karpfisken mort (*Rutilus rutilus*) er derimot en art som normalt utvikler seg enten til å bli hannfisk eller hunnfisk, og som ikke endrer kjønn i løpet av livet. Derfor var det noen forundrete britiske sportsfiskere som rundt 1980 oppdaget at enkelte eksemplarer av arten som ble fisket nedstrøms for et kloakkrenseanlegg i Themsen i England, hverken var hannfisk eller hunnfisk, men snarere tvekjønnete individer, med både rogn og melke. Parallelt med dette oppdaget forskerne at når regnebueørret (*Oncorhynchus mykiss*) ble plassert i akvarier tilført avløpsvann fra kloakkrenseanlegg, så begynte ikke-kjønnsmodne hannfisk å produsere eggeplommeproteinet vitellogenin [2]. Vitellogenin produseres normalt i leveren under kjønnsmodningen hos hunnfisk, hvor det blir skilt ut i blodbanen og transportert til ovariet der vitellogeninet tas opp i den voksende eggcellen [3]. Her blir det til en viktig og energirik del av innholdet i plommesekken til den nyklekte larven.

Disse funnene, som tydet på at utslippene fra kloakkrenseanlegg inneholdt stoffer som virket feminiserende på fisk, ble starten på en omfattende kartlegging av problemet i Storbri-



tannia, og etter hvert også i Europa, USA, Canada, Japan og en rekke andre land. I mange tilfeller var andelen tvekjønnet fisk opp mot 100%, og i en undersøkelse av 51 elver i Storbritannia var 86% av lokalitetene påvirket [2, 3]. Effekten var ikke alltid like lett å få øye på, men under mikroskopet kunne forskerne se eggceller i testikkelvevet, eller de kunne måle eggeplommeprotein i blodprøvene. Andre karpeslag som sandkryper (*Gobio gobio*), brasme (*Abramis brama*) og karpe (*Cyprinus carpio*) viste de samme tendensene, mens gjedde (*Esox lucius*) og abbor (*Perca fluviatilis*) fanget i forurensete lokaliteter ikke var like sterkt påvirket som mort fra samme lokalitet. Dette kan skyldes artsforskjeller i følsomhet, men også ulik eksponering, siden de befinner seg på ulike nivå i næringskjeden. Også i marine arter er slike fenomener observert, både i naturen og fremkalt ved eksponering for hormonforstyrende stoffer i laboratoriet.

### Jakten på hormonhermere

Ettersom effektene så ut til å etterligne det som skjer under kjønnsmodningen i hunnfisk ble de hormonforstyrrende effektene mistenkt å skyldes stoffer med østrogene egenskaper, det vil si at de kunne etterligne det naturlige kvinnelige kjønnshormonet østradiol. Dermed begynte jakten på å identifisere disse «hormonhermerne». Ved hjelp av kjemisk fraksjonering og analyse ble det funnet en lang rekke stoffer med østrogene egenskaper i utslipp fra kloakkrensingsanlegg. Blant disse stoffene var både våre egne steroidhormoner som natur-

Fig. 4 | Tvekjønnet torsk. Denne torsken (*Gadus morhua*) ble eksponert på larvestadiet for det hunnlige kjønnshormonet østradiol, som påvirket kjønnsdifferensieringen slik at den utviklet både hunnlige og hannlige kjønnsorganer (rogn og melke). Foto: Sonnich Meier, Havforskningsinstituttet.



Fig. 5 | Amerikansk alligator (*Alligator mississippiensis*) er en av artene som viste tydelige tegn på kjønnsforstyrrelse i innsjøen Lake Apopka i Florida, USA på 1980- og 90-tallet. Foto: Colourbox.

lig skilles ut i kloakken med urin og avføring, men også heste-østrogener som brukes i hormonbehandling av mennesker med hormonsvikt, og syntetiske stoffer av ulik karakter og bruksområde. Av disse syntetiske kjemikalierne var det både stoffer med svakere østrogen-effekter som alkylfenoler brukt i plast, maling og løsemidler, men også kraftigere østrogener som etynyløstradiol brukt i p-piller, det sterkeste østroget funnet i slike utslipp. I tillegg til kloakkrensaneanlegg er stoffer med hormonforstyrrende egenskaper påvist i avløpsvann fra oljeraffinerier, malingfabrikker, plastproduksjon og annen type kjemikalieindustri. Ofte er det en blanding av stoffer med ulik grad av effekt som sammen kan gi uønskete skadevirkninger, det vi kaller «cocktail-effekten». Dette gjør det ekstra vanskelig å regulere og overvåke denne typen stoffer.

Måling av eggeplommeproteinet vitellogenin i blodprøver av hannfisk viste seg å være en enkel og pålitelig metode for å påvise østrogene effekter av avløpsvann og kjemikalier [3]. Metoden er etter hvert tatt i bruk som en standard metode for å overvåke denne typen biologiske effekter av utslipp, og også i testing av kjemikalier for å unngå uønskete effekter på miljøet. Funnene førte også til større fokus på utvikling av bedre renseteknologi i vannrensaneanlegg, for å fjerne slike stoffer fra avløpsvannet. Men fortsatt slippes det meste av kloakken ut etter bare beskjeden rensing, hvis noen i det hele tatt.

#### **Trøbbel i Lake Apopka**

Alligatorene (*Alligator mississippiensis*) i Lake Apopka i Florida (USA) begynte å få problemer med rekrutteringen allerede

på 1970-tallet. Dette skyldtes flere tiår med tilførsler av sprøytemidler og næringssalter fra jordbruket i området. På toppen av dette skjedde det i 1980 et ukontrollert utslipp av det DDT-lignende insektmiddelet dicofol og andre klororganiske forbindelser til innsjøen fra en kjemikaliefabrikk. Fra da av gikk det ytterligere nedover med populasjonen, og flere og flere tegn tydet på at alligatorenes forplantningsevne var direkte påvirket. Etter hvert ble det tydelig at både hannlige og hunnlige kjønnsorganer var unormale. Hos hunnene dukket det opp endringer i eggstokkene, såkalte multioocytiske follikler, mens hannalligatorene fikk problemer både med størrelsen (på kjønnsorganet), og også med testosteron-nivåene [4].

Etter et historisk lavmål for alligatorbestanden i Lake Apopka på slutten av 1980-tallet, ble flere tiltak satt i verk for å restaurere området og få natur- og dyreliv tilbake. I dag rapporteres det at innsjøen begynner å få tilbake noe av det som tidligere gjorde det til en populær turistdestinasjon tidligere, med et rikt fiske og vakker natur. Og kjønnsorganene til alligatorene er tilsynelatende på det nærmeste normale igjen.

#### «Evigvarende kjemikalier» er et globalt problem

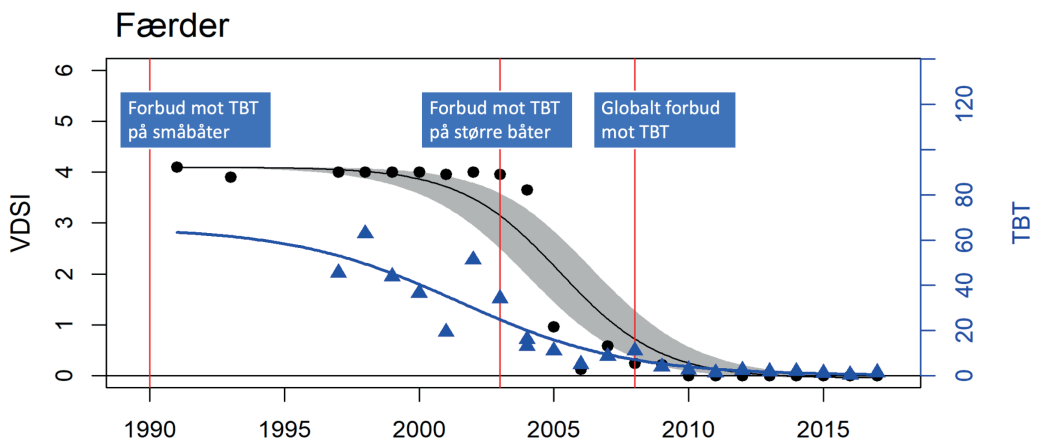
Men problemet med de persistente organiske miljøgiftene, det vi kaller POPer («persistent organic pollutants»), er ikke så lett å bli kvitt. De sprer seg ikke bare lokalt, de er veldig lite nedbrytbare og de kan transporteres over lange avstander med vind- og havstrømmer og med elver. Siden mange av disse prosessene peker nordover, vil også mange av POPene havne i Arktis, langt unna der de er produsert. Der tas de opp i plankton og annet småkryp og på grunn av sin fettløselighet hopes de opp i næringskjeden gjennom det vi kaller biomagnifikasjon. På toppen av næringskjeden står arter som isbjørn og spekkhogger, ikoniske arter som skjuler svært høye nivåer av miljøgifter [5]. Også hos isbjørn på Svalbard er det påvist en sammenheng mellom POP-nivåer og størrelsen på kjønnsorganet og testosteronmengden i blodet. I St. Lawrence-gulften i Canada er det observert hvithval med hermafroditisme, sammen med en høy forekomst av kreft.

#### Lysning i sikte?

Til tross for mange slike dystre rapporter opp gjennom årene, finnes det også lyspunkt. Siden Rachel Carson ga ut sin alarmerende bok *Silent spring* i 1962 [6], er oppmerksomheten rundt miljøgiftenes skadevirkninger blitt gradvis større, og behovet for tiltak og reguleringer anerkjent gjennom internasjonale avtaler og konvensjoner som Oslo-Paris (OSPAR), Stockholm- og Rotterdam-konvensjonene osv. Likevel gjør



Fig. 6 | Utviklingen av TBT-forurensning og imposex i purpursnegl har blitt fulgt på flere stasjoner langs norskekysten siden tidlig på 1990-tallet. Denne figuren viser bedringen i tilstanden på Færder fyr i Oslofjorden som følge av internasjonale tiltak mot TBT i bunnstoff i 2003 og 2008. Figuren er hentet fra Schøyen et al. (2019)[7] og modifisert.



miljøgiftenes lange nedbrytningstid og snikende effekter sitt til at det går sakte med å rydde opp i gamle synder. Altfor sakte, ville Rachel Carson ment.

Reguleringen av TBT i bunnstoff er samtidig et stjerneeksempel på at det nytter. Når kunnskapen om effekter på naturen er åpenbare, og sammenhengen mellom årsak og virkning forstått, er det faktisk mulig å få til noe. Begrensningen av bruken av TBT i Arcachon-bukten rundt 1980 var sannsynligvis første gang *føre var*-prinsippet ble brukt i kjemikalierregulering. Etter hvert spilte internasjonale organer som Oslo-Paris konvensjonen, EU og Den internasjonale maritime organisasjon IMO viktige roller i den videre reguleringen av TBT internasjonalt. Nasjonale begrensninger på bruk av TBT i bunnstoff på fritidsbåter og andre fartøy mindre enn 25 meter ble innført på slutten av 1980-tallet og begynnelsen av 1990-tallet. I Norge ble disse reguleringene innført i 1990, og fartøy lengre enn 25 m ble inkludert i forbudet i 2003. Et globalt forbud mot TBT på alle skip fulgte i januar 2008. TBT er nå definert som en prioritert miljøgift i EU.

Overvåking av imposex i sneglebestander ble tidlig innført som en metode for å følge sneglepopulasjonenes tilstand og dermed også effektene av tiltakene. I Norge begynte overvåkingen i 1991 ved to stasjoner, Karmsundet og Færder. Fra 2001 økte dette til sju og fra 2002 til åtte stasjoner med de fleste stasjonene i Sør-Norge, men også med én stasjon i Lofoten og én i Varangerfjorden i Finnmark [7]. Bortsett fra Varangerfjorden viste alle stasjonene stor påvirkning fra TBT de første årene, men overvåkingen viser en tydelig effekt av reguleringene som ble innført i 2003 og 2008. Disse trendene stemmer godt overens med undersøkelser i andre land. Generelt er imposex-problemet i bedring over hele kloden,

POP-forbindelsen PCB (polyklorerte bifenyl) som ble introdusert på slutten av 1920-tallet, ble forbudt til ny bruk i Norge i 1980. PCB er nå gradvis faset ut av alle produkter som inneholdt dette stoffet, som lysarmaturer, isolerglass, kondensatorer og transformatorer. Nivåene i naturen er gradvis på vei nedover, men det vil ta hundrevis av år til vi har nådd nivåer som kan regnes som ubetydelige. Likevel ser vi positive tendenser i områder som har vært hardt påvirket tidligere. Gråselbestanden i Østersjøen var sterkt påvirket av PCB, og det ble nesten ikke observert gravide sel det siste tiåret før forbudet ble innført. Siden den gang har PCB-nivåene i gråselens spekk gått ned med ca. 90%, mens andelen gravide hunnsel har økt betraktelig.

### **Erstatningsstoffer til besvær**

Et problem i kjemikaliereregulering er at forbud mot ett stoff fører til at det innføres et annet, ofte med lignende egenskaper, uten at effektene er grundig utredet. Forbudet mot PCB førte til innføring av bromerte flammehemmere, som har vist seg å ha tilsvarende uheldige egenskaper som PCB. Forbudet mot DDT førte til at det ble innført andre typer insektmidler. En av disse gruppene er neonikotinoider. Riktignok har neonikotinoidene mindre skadelige effekter på fugler og pattedyr, men samtidig har de vist seg å ha en lang rekke andre økologiske effekter, spesielt på naturlige insektpopulasjoner. Nå er også disse stoffene på vei til å bli forbudt i mange land.

En av hormonhermerne som ble oppdaget knyttet til plastproduksjon var bisfenol A, et stoff som viste moderate østrogene effekter i forsøk. Da det ble påvist lekkasje av bisfenol A fra tåteflasker og plastsmokker, innførte Norge sammen med EU forbud mot dette stoffet i tåteflasker i 2011. Fra 2020 er det også forbud mot bruk i varmfølsomt papir, for eksempel i kassakvitteringer. Siden den tid har flere drikkeflaskeprodusenter reklamert med bisfenol A-frie produkter, som har fremstått som giftfrie alternativ. Problemet er at disse produktene ofte er fremstilt med lignende kjemikalier med lignende egenskaper, for eksempel bisfenol B, S, og F. Undersøkelser av mange av disse erstatningsstoffene har vist at de er like østrogene som bisfenol A, og dermed er vi like langt. Behovet for å regulere kjemikalier etter gruppe og biologisk effekt blir mer og mer tydelig.

### **Naturen behøver nye metoder**

Når arters reproduksjonssystemer blir forstyrret og forplantningen går skeis, får dette følger for det biologiske mangfoldet. Det internasjonale Naturpanelet IPBES har nylig pekt på forurensning som en av de største direkte truslene mot

bevaring av biologisk mangfold [8]. Det produseres mer enn 100 000 kjemiske stoffer i dag, og bare en liten andel av disse er grundig testet for effekter på naturen. Samtidig oppdager vi at stoffer som er testet med tradisjonelle giftighetstester har effekter som ikke viser seg før lenge etterpå. Dette peker på noen av problemene med dagens testmetoder. For det første forteller ikke tester på voksne dyr noe om effekter på fostre eller avkom. Derfor er flergenerasjonstester nødvendige, men dette kan selvsagt ikke gjøres på alle stoffer og arter som finnes der ute. For det andre gjøres dyreforsøk bare på et lite antall modellorganismer, men disse representerer ikke alltid de artene som blir utsatt for kjemikalier i naturen. Her vil kunnskap om mekanismer og hva som skiller arter når det gjelder forsvarsmekanismer, for eksempel basert på sammenligning av gener, gjøre det lettere å overføre kunnskap og metoder til andre arter [9]. For det tredje gjøres testene ofte på høyere konsentrasjoner som danner grunnlag for fastsetting av grenseverdier for de åpenbare gifteffektene, mens lavdose-effekter ikke blir fanget opp. Og det er ofte lavdose-effekter som åpenbarer seg med de hormonforstyrrende stoffene. Sist, men ikke minst, er det viktig at vi regulerer stoffer etter biologisk effekt, det vil si at vi begrenser bruken av en gruppe av stoffer snarere enn enkeltstoffer.

Godt er det at hunnsnegl slipper å få påtvunget hannlige kjønnsorganer på grunn av bunnstoff på båter, men skal vi unngå at stoffene vi produserer og slipper ut fører til nye kjønnsforstyrrelser og hormonelt kaos i naturen, er vi avhengig av en «grønn kjemi», der kunnskap om uønskete biologiske effekter er med fra starten av i designprosessen.