

051

Genetiske effekter av tungmetaller på pattedyr

En kunnskapsoversikt

Ingvild Svorkmo Espelien

utredning



NINA

NATURENS
TÅLEGRENSER

Miljøverndepartementet
Fagrapport 38

NORSK INSTITUTT FOR NATURFORSKNING

Naturens Tålegrenser

Programmet Naturens Tålegrenser ble satt igang høsten 1989 i regi av Miljøverndepartementet.

Programmet skal blant annet gi innspill til arbeidet med Nordisk Handlingsplan mot Luftforurensninger og til pågående aktiviteter under Konvensjonen for Langtransporterte Grenseoverskridende Luftforurensninger (Genève-konvensjonen). I arbeidet under Genève-konvensjonen er det vedtatt at kritiske belastningsgrenser skal legges til grunn ved utarbeidelse av nye avtaler om utslippsbegrensning av svovel, nitrogen og hydrokarboner.

En styringsgruppe i Miljøverndepartementet har det overordnede ansvar for programmet, mens ansvaret for den faglige oppfølgingen er overlatt en arbeidsgruppe bestående av representanter fra Direktoratet for naturforvaltning (DN), Norsk polarinstitutt (NP) og Statens forurensningstilsyn (SFT).

Arbeidsgruppen har følgende sammensetning:

Eva Fuglei	- NP
Tor Johannessen	- SFT
Else Løbersli	- DN
Steinar Sandøy	- DN

Styringsgruppen i Miljøverndepartementet består av representanter fra avdelingen for naturvern og kulturminner, avdelingen for vannmiljø, industri- og avfallssaker og avdelingen for internasjonalt samarbeid, luftmiljø og polarsaker.

Henvendelse vedrørende programmet kan rettes til:

Direktoratet for naturforvaltning
Tungasletta 2
7005 Trondheim
tel: 07 58 05 00

eller

Statens forurensningstilsyn
Postboks 8100 Dep
0032 Oslo 1
Tel: 22 57 34 00

Genetiske effekter av tungmetaller på pattedyr

En kunnskapsoversikt

Ingvild Svorkmo Espelien



**NATURENS
TÅLEGRENSE**

Miljøverndepartementet
Fagrapport 38

NINAs publikasjoner

NINA utgir fem ulike faste publikasjoner:

NINA Forskningsrapport

Her publiseres resultater av NINAs eget forskningsarbeid, i den hensikt å spre forskningsresultater fra institusjonen til et større publikum. Forskningsrapporter utgis som et alternativ til internasjonal publisering, der tidsaspekt, materialets art, målgruppe m.m. gjør dette nødvendig.

NINA Utredning

Serien omfatter problemoversikter, kartlegging av kunnskapsnivået innen et emne, litteraturstudier, sammenstilling av andres materiale og annet som ikke primært er et resultat av NINAs egen forskningsaktivitet.

NINA Oppdragsmelding

Dette er det minimum av rapportering som NINA gir til oppdragsgiver etter fullført forsknings- eller utredningsprosjekt. Opplaget er begrenset.

NINA Temahefter

Disse behandler spesielle tema og utarbeides etter behov for å informere om viktige problemstillinger i samfunnet. Målgruppen er "almenheten" eller særskilte grupper, f.eks. landbruket, fylkesmennenes miljøvernavdelinger, turist- og friluftlivskretser o.l. De gis derfor en mer populærfaglig form og med mer bruk av illustrasjoner enn ovennevnte publikasjoner.

NINA Fakta-ark

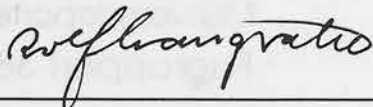
Hensikten med disse er å gjøre de viktigste resultatene av NINAs faglige virksomhet, og som er publisert andre steder, tilgjengelig for et større publikum (presse, ideelle organisasjoner, naturforvaltningen på ulike nivåer, politikere og interesserte enkeltpersoner).

I tillegg publiserer NINA-ansatte sine forskningsresultater i internasjonale vitenskapelige journaler, gjennom populærfaglige tidsskrifter og aviser.

Tilgjengelighet: Åpen

Prosjekt nr.: 1545

Ansvarlig sign:



Espellen, I.S 1993. Genetiske effekter av tungmetaller på pattedyr. En kunnskapsoversikt. - NINA utredning 51: 1-49.

Trondheim juni 1993

ISSN 0802-3107

ISBN 82-426-0375-8

Forvaltningsområde:

Norsk: Forurensning

Engelsk: Pollution

Rettighetshaver ©:

NINA Norsk institutt for naturforskning

Publikasjonen kan siteres fritt med kildeangivelse

Redaksjon:

Rolf Langvatn og Lill L. Olden

NINA, Trondheim

Design og layout:

Eva M. Schjetne

Kari Sivertsen

Tegnekontoret NINA

Sats: NINA

Trykk: Strindheim Trykkeri AL

Opplag: 400

Trykt på klorfritt papir

Kontaktadresse:

NINA

Tungasletta 2

7005 Trondheim

Tel: 07 58 05 00

Oppdragsgiver:

Direktoratet for naturforvaltning

Referat

Espeli, I.S 1993. Genetiske effekter av tungmetaller på pattedyr. En kunnskapsoversikt. - NINA utredning 51: 1-49.

Denne rapporten gir en litteratursammenstilling av genotoksiske effekter av metaller, samt interaksjoner mellom metaller og andre typer eksponeringer som forekommer i naturmiljø. Rapporten gir også en oversikt over metoder som kan benyttes og tilpasses prøvetaking fra viltlevende dyr, slik at resultateffekt kan måles *in vivo*.

Flere metaller har kjent genotoksisk og karsinogen effekt på dyr i eksperiment og på mennesker, og det er grunn til bekymring for den potensielle genotoksiske effekt av metallforurensing i naturen. Eksponering for metaller utgjør en viktig del av viltlevende dyrs totale eksponeringsbilde, ikke minst ettersom metaller også forekommer naturlig i varierende mengder.

Metallene er en gruppe grunnstoffer med varierende kjemiske egenskaper. Det er vanskelig å gi en felles oversikt over metallenes genotoksiske evner på molekylnivå. Metaller, eller metallion-komplekser, er ofte mutagene uten metabolsk aktivering, i motsetning til mange organiske mutagener. Enkelte metallioner er genotoksiske, mens andre ikke er det. Kadmium (i form av Cd^{2+}) er genotoksisk, mens magnesium (i form av Mg^{2+}) ikke er det. En mulig forklaring er at de genotoksiske metaller har en sterkere evne til å danne kovalente bindinger med makromolekyler (som DNA) mens ikke-genotoksiske metaller danner mindre stabile ionebindinger.

Det er vanskelig å påvise en årsak-virkning sammenheng for genotoksiske effekter. Tolkninger av populasjonsrelaterte data, slik som epidemiologi, kan ikke i seg selv gi svar på årsaken til genetisk skade, men bare påvise sammenhenger. For å studere årsak-virkning sammenheng må en velge metoder som måler effekter på målet for genetiske skader. Dette vil først og fremst si DNA-molekylet.

Genetiske effekter hos viltlevende pattedyr kan studeres på flere biologiske nivå, som molekylærbiologiske studier, cellebiologiske undersøkelser og populasjonsdynamiske registreringer. I omfattende studier av mennesker kombineres helst flere metoder fordelt på flere biologiske nivå. Valg av metoder ved studier av viltlevende pattedyr begrenses av flere forhold, bl.a. tilgang på laboratoriefasiliteter i nærheten av prøvetakingsområdet og mulighet til å oppbevare prøvene i felt.

Undersøkelse av DNA-addukter er nye metoder som gir mål på binding av kjemiske forbindelser direkte til DNA-molekylet. Flere metaller binder seg direkte til DNA (og danner DNA-addukter). Foreløpig kan større DNA-addukter, som involverer f.eks. organiske mutagener, lett påvises, mens de fleste metaller er vanskelig å påvise. Slike metoder kan tilpasses arbeid med ville dyr, men dette krever utviklingsarbeide.

Kromosomaberrasjoner i lymfocytter er en indikator på genotoksisk eksponering for enkeltstoffer eller for komplekse blandinger av stoffer. Forekomst av kromosomaberrasjoner er et uttrykk for resultateffekten, summen av de potensielt genotoksiske belastninger et individ er utsatt for. Selv om studier av kromosomaberrasjoner er relativt arbeidskrevende, er metoden likevel en av de beste vi har i dag, både fordi den er veletablert, med en solid database på en rekke genotoksiske forbindelser, men også fordi den er relativt spesifikk (enkelte kromosomaberrasjoner er karakteristiske for bestemte typer genotoksisk eksponering) og direkte (måler forandring i kromosomene og dermed i DNA-molekylet).

Mikronukleustesten, basert på to-kjerne celler, er en mindre arbeidskrevende, men heller ikke så spesifikk metode. Mikronukleustesten er en registrering av tapt genetisk materiale i form av hele eller fragmenter av kromosomer som blir igjen utenfor cellekjernen etter celledelingen. Den vil være en god støtte til f.eks. kromosomaberrasjonsstudier.

Flow-cytometri ser ut til å være et godt supplement til studier av kromosomaberrasjoner, men har større begrensinger i hva slags skader som kan detekteres. Metoden gir imidlertid informasjon om et stort antall celler, og kan derfor være aktuell som støtte-metode til kromosomstudier.

Populasjonsdynamiske endringer kan korreleres med nivå av bestemte typer forurensinger som kan ha genotoksiske effekter. Ettersom populasjonsøkologiske studier gjerne utføres over flere år, er de en god basis for endringer av både naturlig og menneskepåført karakter. For å kunne påvise en årsak-virkning sammenheng må imidlertid populasjonsdynamiske endringer kobles sammen med genotoksiske effekter, målt på celle-og/eller molekylnivå. En korrelasjon mellom funn på populasjonsnivå og molekylært/cellebiologisk nivå kalles forurensingsøkologi.

Interaksjoner er kjent ved eksponering for flere forbindelser. Samtidig eksponering for enkelte metaller og radioaktivitet i eksperiment er påvist å ha en dramatisk sterkere genotoksisk effekt enn hva som teoretisk kunne forventes utifra den kjente genotoksiske effekt av enkeltstoffer. Denne typen in-

teraksjon betegnes som en synergistisk effekt, og effekten av slike interaksjoner er ikke undersøkt på villlevende pattedyr.

DNA-reparasjonsprosesser er viktige faktorer både for evolusjon på DNA-nivå, og for den enkelte celledens evne til å motstå en mutagen eksponering. Et DNA-reparasjonssystem vil aldri være 100% effektivt, da dette vil bety at cellens energi-investering i DNA-reparasjon måtte økes til det uendelige. Derfor er risikoen for at en DNA-skade kan oversees av DNA-reparasjonssystemet alltid til stede, og denne risikoen øker med økende mutagen eksponering.

Måling av forurensingsnivå alene gir aldri svar på spørsmålet om effekter av forurensingen, og dette gjelder i enda sterkere grad for genetiske effekter. I naturen vil eksponeringen gjerne være av kompleks natur, noe som gjør det umulig å forutsi effekter utifra viten fra laboratorieforsøk alene. Studier av genetiske effekter er arbeidskrevende, og krever bruk av flere metoder parallelt for at vitenskapelig holdbare resultater skal kunne oppnås.

Emneord: Pattedyr - DNA - Villlevende dyr - Kromosomer - Genotoksisitet - Metaller - Forurensning

Ingvild Svorkmo Espelien, NINA, Tungasletta 2, 7005 Trondheim.

Abstract

Espelien, I.S 1993. Genetic effects of heavy metals in mammals. En kunnskapsoversikt. - NINA utredning 51: 1-49.

A literature review is given on genotoxic effects of metals. Some metals show genotoxic activity in experimental test systems, and some are known carcinogens. Increased exposure for these metals will increase the risk of genotoxicity in wild mammals.

The target for genetic effects is primarily the DNA-molecule. Metals bind directly to DNA or form complexes with nucleoproteins and/or DNA. Metals are usually direct-acting mutagens, without need of metabolic activation. Metals can also increase the effects of other genotoxic agents. Therefore, biological effect-monitoring methods are important.

The report gives a review of genotoxicity methods that can be used for wildlife studies. A recently developed method is the DNA-adduct method where binding to DNA can be measured. Well established methods are the cytogenetic methods, like chromosome aberrations or micronuclei. These methods have been extensively used for metal exposure in humans and in experiments, and can be used in wildlife as well. Population changes, such as calf recruitment and mortality data, can reveal correlations between exposure, genotoxic effects and the population changes of the population.

Emneord: Genotoxicity methods - Wildlife - Mammals - Metals - Genotoxicity - Pollution.

Ingvild Svorkmo Espelien, NINA, Tungasletta 2, 7005 Trondheim.

"All substances are poisons, there is none which is not a poison. The right dose differentiates a poison from a remedy"

(Paracelsus, 1493-1541).

Forord

Utredningen er basert på et litteraturstudium over hva som i dag er kjent om genotoksiske effekter av luftbåren forurensing, med hovedvekt på tungmetaller. Rapporten gir ikke en fullstendig litteraturoversikt, men den vil danne grunnlag for arbeid med genetiske effekter av luftbåren forurensing i felt. Det er derfor lagt stor vekt på metodevurdering og praktiske problemer i forbindelse med metodene.

Rapporten er finansiert av Direktoratet for naturforvaltning i forbindelse med det norsk-russiske miljøsam arbeidet. Terje Skogland, NINA, er faglig ansvarlig.

Innen rammene av prosjektet "naturens tålegrenser" har Signe Nybø og Hans Christian Pedersen skrevet to rapporter om effekter av tungmetallforurensing (Pedersen og Nybø 1990, Nybø 1991). Når det gjelder effekter av tungmetaller generelt henvises til disse.

Undertegnede takker hermed Åse Krøkje, Barbro Gullvåg, John-Atle Kålås og Signe Nybø for faglige kommentarer.

Trondheim, februar 1993,

Ingvild Svorkmo Espelien

Innhold

Referat	3	4.6.3 Andre genotoksiske effekter av metaller	19
Abstract	4	4.6.4 Klastogene effekter (effekter på kromosomalt nivå)	19
Forord	5	4.6.5 Bakterietester for mutagenisitet	19
1 Innledning	7	4.6.6 Immunreaksjoner	20
2 Skader på genetisk materiale	8	4.6.7 Klassifisering som karsinogener (kreftfremkallende stoffer)	20
2.1 Mutasjoner	8	4.7 Betydning av livsfase for effekt av metaller	21
2.1.1 Mutagenese	8	4.8 Interaksjoner	21
2.1.2 Mutagener	8	4.8.1 Effekter av forsurening	21
2.1.3 Mutagener klassifiseres etter virkemåte	8	4.8.2 Mangel på essensielle metaller	22
2.2 Reparasjonsprosesser	8	4.8.3 Mutagene/karsinogene effekter og interaksjoner	22
2.3 Følger av skader på genetisk materiale	9	5 De enkelte metallene	22
2.3.1 Følger av mutasjoner på molekylært og cellulært nivå	9	5.1 Viktige toksiske metaller	22
2.3.2 Følger av mutasjoner for individet	9	5.1.1 Bly	22
2.3.3 Følger av økt mutasjonsfrekvens for en populasjon	9	5.1.2 Kvikksølv	24
2.3.4 Interaksjoner og resultatteffekt	10	5.1.3 Kadmium	26
3 Metodevalg	11	5.1.4 Arsen	28
3.1 Generelt om gentoksikologiske metoder	11	5.1.5 Aluminium	29
3.2 Planlegging av en undersøkelse	11	5.2 Essensielle metaller	30
3.3 DNA-teknikker	11	5.2.1 Jern	30
3.4 Flow-cytometri	12	5.2.2 Sink	30
3.5 Cytogenetiske metoder	12	5.2.3 Kobber	31
3.5.1 Kromosomaberrasjoner	12	5.2.4 Mangan	32
3.5.2 Båndfarging	13	5.2.5 Selen	32
3.5.3 Søsterkromatideutbytte (SCE)	13	5.2.6 Kobolt	33
3.5.4 Mikrokjerner	13	5.2.7 Nikkel	34
3.6 Histologiske metoder	13	5.2.8 Krom	34
3.7 Fosterobduksjon	13	5.3 Sjeldnere, toksiske metaller	35
3.8 Populasjonsdynamiske/populasjonsgenetiske endringer	14	5.3.1 Platina	35
3.9 Oppsummering av metodevalg	14	5.3.2 Strontium	35
4 Metaller genotoksisitet	16	5.3.3 Cesium	36
4.1 Faktorer som påvirker toksisitet av metaller	16	5.3.4 Vanadium	36
4.2 Målorgan for metaller	16	5.3.5 Beryllium	36
4.3 Metaller effekt på reproduksjon	17	5.3.6 Antimon	37
4.4 Alderseffekter av metaller	17	5.3.7 Barium	37
4.5 Teratogene effekter av metaller	17	6 Metallforurensning i norsk natur	37
4.6 Mutagene og karsinogene effekter av metaller	17	7 Konklusjon	38
4.6.1 Metaller binding til DNA	19	8 Ordliste	39
4.6.2 Punktmutasjoner	19	9 Summary	41
		10 Referanser	42

1 Innledning

Menneskelig aktivitet har økt hastigheten på metallenes sirkulasjon, både biologisk og geologisk. Et eksempel på dette er økningen i bly i den grønlandske innlandsisen fra begynnelsen av den industrielle revolusjon, med en drastisk økning fra blybensinens introduksjon i 1920-åra (Goyer 1991).

Effekter av luftbåren forurensing er et kjent problem i Norge, et eksempel er forurensing av vann og vassdrag som følge av langtransportert luftbåren svovel og nitrogen. For terrestriske økosystemer er innhold av tungmetaller undersøkt i flere arter av viltlevende planter og dyr. Innhold av bly i mose har vist seg å samsvare godt med langtransportert atmosfærisk nedfall i Norge (Steinnes et al. 1988). Metallinnhold er målt i enkelte viltlevende dyrearter. Nivå av tungmetaller i lever og nyre fra rein (Frøslie et al. 1984 og 1986, Skogland et al. 1992) og lirype (Pedersen et al. 1991, Kålås et al. 1992) i store deler av landet overstiger WHO's grenseverdier for menneskeføde. I 1986 førte Tsjernobylulykken til radioaktivt nedfall i Norge, nok et eksempel på at luftbåren forurensing er et globalt, like mye som et lokalt problem (Barnaby 1986, USSR-SCUAE 1986, Wheeler 1988).

I de senere år har forurensingen på Kola og deler av Finmark vært viet oppmerksomhet. Forurensingen stammer fra tungindustri på Kola, og har spredt seg via luft og nedbør til nærliggende områder i Norge, Finland og Sverige (USSR Academy of Science 1991). Flere metaller og svovelforbindelser har bidratt til miljøproblemer i nordområdene (Kismul et al. 1992, Tikkanen et al. 1992).

Flere metaller (Hg, Pb og Cd) er spredt globalt (Nriagu 1988, Nriagu og Pacyna 1988). Disse metallene har evne til å påvirke det genetiske materialet i biologiske organismer, og utgjør en del av den globale luftforurensing med potensielt genotoksiske effekter (Malling og Wassom 1977).

Måling av innhold av metaller er et viktig ledd i kartlegging av utbredelse av metallforurensing, men gir ingen informasjon om den biologiske betydning av denne forurensingen. Den biologiske betydning av metallforurensing kan forstås ved effektstudier, der forandringer i ulike biologiske nivå undersøkes.

Denne rapporten omhandler genotoksiske effekter av metaller som er beskrevet i litteraturen. Undersøkelser av metallers genotoksiske effekter har for det meste konsentrert seg om mennesker og eksperimentelle studier av laboratoriedyr, og i liten grad om viltlevende dyr. Der litteratur på ville dyr er sparsom eller

ikke eksisterer, vil effekter på mennesker trekkes inn. Som mekanistisk forklaring på genetisk skade er det henvist til eksperimentelle studier. Rapporten er i hovedsak begrenset til pattedyr.

I mange tilfeller er definisjon av en genetisk effekt vanskelig, fordi årsaken til et fenotypisk avvik ikke er tilstrekkelig klarlagt. Dette er særlig tilfelle for reproduksjonseffekter, som kan skyldes genetisk skade, ikke-genetisk skade eller generelle stressfaktorer som næringsmangel og ødeleggelse av leveområder. Av denne grunn er reproduksjonseffekter omtalt i rapporten, selv om årsaken til disse effektene ikke alltid er kjent.

En viktig del av rapporten er å skaffe en oversikt over metoder som kan nyttes i felt på viltlevende dyr for å gi svar på om forurensinger i et område har gitt genetiske skader. Ettersom slike metoder vil gi et bilde av resultateneffekt, er det lagt vekt på å beskrive effekter av eksponering for flere komponenter samtidig.

2 Skader på genetisk materiale

DNA-molekylet er basis for overføring av genetisk informasjon, ikke bare fra en generasjon av individer til den neste, men også mellom cellegenerasjoner i samme organisme. Genetiske prosesser innbefatter derfor både de egenskaper og forandringer som er arvelige fra en generasjon av individer til en annen, og forandringer og egenskaper som kan arves innen en organismes celler.

2.1 Mutasjoner

En mutasjon er en forandring i cellens DNA. DNA-molekylet er stort, og skal dupliseres for hver ny cellegenerasjon. Det er derfor muligheter for at mutasjoner kan skje, spontant eller som følge av en ytre påvirkning. **Induserte mutasjoner** er forårsaket av en eller flere mutagene påvirkninger. Mutasjoner sorteres etter hvor stor del av DNA-molekylet som er endret:

Punktmutasjoner er forandringer i små områder på DNA-molekylet. En base kan være tapt, byttet ut med en annen, eller en base kan være tilført i tillegg til den som var fra før. Alternativt kan punktmutasjoner definisjonsmessig omfatte alle mutasjoner som innebærer endringer i områder bestående av mindre enn 50 baser på DNA-molekylet. I denne rapporten er den siste definisjonen brukt.

Genommutasjoner er mutasjoner i større deler av DNA-molekylet. Som samlebetegnelse på en viktig gruppe genommutasjoner brukes kromosomaberrasjoner. Kromosomaberrasjoner er en betegnelse på alle skader og forandringer som kan observeres på kromosomene (brudd, sammenheftninger og tap/overflighet av kromosomer). Forandringer på kromosomnivå i cellen betegnes også som **cytogenetiske/klastogene** effekter.

2.1.1 Mutagenese

Mutagenese defineres i videste forstand som induksjon av skade på DNA-molekylet, og er for det meste studert hos prokariote organismer, eller *in vitro* i eukariote celler.

2.1.2 Mutagener

Et mutagen er et stoff som kan gi endringer i DNA. Endringen i DNA kan forårsakes av det mutagene stoffet direkte, eller stof-

fet kan gi DNA-skader indirekte, ved å skade cellekomponenter som er sentrale for DNA-molekylets funksjon og replikasjon.

Naturlige mutagener: Sollys er et eksempel på at mutagener kan forekomme naturlig. UV-stråling hører til under kategorien ioniserende stråling, stråling som kan ionisere atomer/molekyler i sin nærhet. Et annet eksempel er den naturlig forekommende bakgrunnstråling fra radioaktive isotoper i bergarter og planter, og kosmisk stråling fra verdensrommet.

Antropogene mutagener: Menneskene har tilført sitt livsmiljø og naturen en rekke mutagener, både i form av kjemiske stoffer, og i form av forskjellige typer stråling.

2.1.3 Mutagener klassifiseres etter virkemåte

Direkte virkende mutagener har effekt direkte på DNA. Eksempler på slike stoffer er baseanaloger (stoffer som kan erstatte de opprinnelige nukleotidene i DNA molekylet) og epoksidder. Kjemiske forbindelser med direkte mutagen effekt kan deles i primære og sekundære mutagener. **Primære mutagener** kan skade DNA-molekylet i sin opprinnelige form, mens **sekundære mutagener** må gjennom en bioaktivering før reaksjon med DNA kan skje. En slik **bioaktivering** er en del av organismens metabolisme. Under den normale metabolismen gjøres stoffer lettere tilgjengelig for organismen. Under denne aktiveringen kan enkelte forbindelser, som i utgangspunktet var ufarlige, bli svært reaktive og skadelige.

Indirekte virkende mutagener virker på deler av cellen som har betydning for celledelingen, som spindeldannelse, kjerne-membran, eller centriolefunksjon. Slik virker f.eks. cellegifter, som ødelegger spindel-funksjonen, og dermed kan føre til at celledelingen forstyrres.

Ko-mutagener er stoffer som ikke har mutagen effekt i seg selv, men som kan forsterke en mutagen effekt av andre stoffer. Caffein er et eksempel på et ko-mutagen, som kan forsterke den mutagene virkning av f. eks. UV-stråling. Dette er vist *in vitro* på humane celler ved studier av kromosomaberrasjoner (Waksvik 1976).

2.2 Reparasjonsprosesser

DNA-reparasjonsprosesser er viktige faktorer både for evolusjon på DNA-nivå, og for den enkelte celledens evne til å motstå en mutagen eksponering.

For enkelte mutagene påvirkninger finnes spesifikke DNA reparasjons-mekanismer. Et eksempel er DNA-reparasjon av skader som følge av UV-stråling. Et DNA-reparasjonssystem gjenkjenner thyminbroer i en tråd av DNA-molekylet ("interstrand bridges") og reparerer disse. For andre typer mutagen eksponering er DNA-reparasjonen mer uspesifikk, og mulighetene for feilreparasjon er større.

I alle tilfelle vil et DNA-reparasjonssystem aldri være 100% effektivt, da dette vil bety at cellens energi-investering i DNA-reparasjon måtte økes til det uendelige. Derfor er risikoen for at en DNA-skade kan oversees av DNA-reparasjonssystemet alltid til stede, og denne risikoen øker med økende mutagen eksponering (Alberts et al. 1989).

2.3 Følger av skader på genetisk materiale

2.3.1 Følger av mutasjoner på molekylært og cellulært nivå

En del mutasjoner fører til celledød, andre vil gi endret enzymaktivitet. Mutante celler vil i varierende grad tilpasses sitt miljø, fra celler som dør til celler som overlever på bekostning av andre, slik som tilfellet er for kreft-celler.

Hvis basen som ved en feil er kommet inn istedet for en annen, gir et kodon som koder for samme aminosyre, eller hvis forandringen er skjedd i et intron (ikke-kodende del av DNA), trenger mutasjonen ikke nødvendigvis å gi noe utslag. Faren for at mutasjonen skal få alvorlige konsekvenser er størst ved mutasjoner som fører til leserammeforskyvning ("frameshift"). Dette kan skje ved tap eller tilførsel av en base. Kodonet kan derved endres slik at det koder for en annen aminosyre, eller det kan endres til et stopp -eller startkodon. En leserammeforskyvning vil ofte gi store endringer i et gen. Mutasjoner i deler av DNA-molekylet som ikke koder for proteiner, som promotorsekvenser, kan også gi følger for cellen. Endring i en promotorsekvens kan forandre hastigheten på transkripsjon av et gen, slik at mengden av et protein i cellen endres. Endringer i mengden av proteiner som er sentrale for cellekommunikasjon kan f.eks. føre til ukontrollert celledeling, som igjen kan være et forstadium til kreftutvikling. Mutasjoner kan også gi defekter i cellens differensieringsevne. Ettersom en ferdig differensiert celle ofte har tapt evnen til å dele seg, vil celler som ikke differensieres representere en fare for økt celledeling (Alberts et al. 1989).

2.3.2 Følger av mutasjoner for individet

Mutasjoner er helt vesentlig for evolusjonen. Noen mutasjoner vil gi et individ økt tilpasningsevne, og dermed vil denne mutasjonen kunne overleve og spres i en populasjon og være en del av den genetiske utvikling.

I langt de fleste tilfeller vil imidlertid en mutasjon føre til at individet får en redusert overlevelsessevne. Følgene for et individ vil avhenge av hvilken celle som muterer.

Kroppscellemutasjoner (somatiske mutasjoner)

Alle mutasjoner som skjer i et individ fra og med zygotestadiet er kroppscellemutasjoner. Teorien for kreftutvikling er basert på at en eller sannsynligvis flere mutasjoner i en kropps-celle er nødvendig for at en ondartet svulst skal oppstå (Cairns 1975). Misdannelser hos et foster kan ha sin årsak i kropps-cellemutasjoner under tidlige faser av svangerskapet (dette er behandlet mer inngående under **kapittel 4.5**, metaller, teratogene effekter). Aldring, både naturlig og for tidlig, kan skyldes mutasjoner. Eksempelvis er medisinsk bruk av røntgen relatert til for tidlig aldring, sannsynligvis forårsaket av generelt økt mutasjonsfrekvens (Bertell 1977). Hjerne-og-karsykdommer kan ha sammenheng med mutasjoner. Endringer og svikt i immunforsvaret kan være forårsaket av mutasjoner i de hurtigdelende cellene i immunsystemets stamceller.

Kjønnscellemutasjoner

Mutasjoner som skjer før befruktningen (pre-zygotisk) er kjønns-cellemutasjoner. Resultatet kan være nedsatt fruktbarhet hos individet som følge av nedsatt overlevelsessevne blant kjønns-celle, eller genetisk skade/død for avkommet. Disse mutasjonene vil ofte føre til spontanaborter, da det er en intrauterin bortseleksjon av abnorme fostere (Boue et al. 1975). Om avkommet overlever, vil hver celle i individet bære mutasjonen, et mutant individ er oppstått. Misdannelser, mental retardasjon, stoffskiftefeil, o.a. kan være følger for avkommet dersom det overlever svangerskapet.

2.3.3 Følger av økt mutasjonsfrekvens for en populasjon

Individgrupper i bestemte livsfaser er mer følsomme for mutasjoner enn resten av populasjonen. Generelt er voksne individer minst følsomme for mutasjoner. Individer i sterk vekst og individer som har en redusert reparasjonskapasitet er mer følsomme for mutasjoner, slik som fostere, oppvoksende unger, drektige hunner (Sharma og Das 1986), og eldre individer (Sharma og Das 1983). En økt mutagen belastning kan gi for tidlig aldring, og dermed forkortet gjennomsnittlig levetid.

Økt mutagen belastning i en populasjon kan medføre økt forekomst av kreft ved økte mutasjonsrater i celler under deling, og ved redusert immunforsvar som følge av ødeleggende mutasjoner i immunsystemets stamceller. Muterte celler i immunforsvaret er en av flere faktorer som kan senke individets generelle vitalitet, og forårsake økt sykdomsforekomst i populasjonen generelt.

En følge av det ovenstående er nedgang i reproduksjonsevnen.

Induserte mutasjoner som følge av en viss mutagen belastning har bidratt til evolusjonen. Denne mutagene belastningen består av naturlig forekommende mutagener. Naturlige radioaktive isotoper bidrar f.eks. til en viss bakgrunnsstråling som kan variere med geologiske forhold. På samme måte kan geologiske forhold gi naturlige metalleksposeringer, og i enkelte områder antas dette å gi et betydelig bidrag til den totale eksponering for sterkt toksiske metaller som f.eks. kadmium. En forhøyet mutagen belastning utover et naturlig bakgrunnsnivå vil gi økt mutasjonsrate i en populasjon. Dette har vært nyttet eksperimentelt, f.eks. ved bestråling av bananflue (*Drosophila melanogaster*, for stråle-effektstudier), eller ved utvikling av sorter av foredlede landbruksvekster, som ved kobolt-60 bestråling av hvete i forsøksfelt (se f. eks. Müntzing 1977). Under naturlige forhold, med en bortseleksjon av skadde gener, vil en forhøyet mutasjonsrate på lengre sikt gi en redusert genetisk diversitet, ettersom en høy mutasjonsrate vil begrense mengden av proteiner som et genom kan kode for (Alberts et al. 1989).

2.3.4 Interaksjoner og resultatteffekt

Når et dyr er utsatt for flere typer forurensing samtidig, får en som regel andre effekter enn det som kunne forventes utifra kjennskap til eksponering for enkeltstoffer i laboratorieforsøk. Dette kommer av at forskjellige stoffer kan virke sammen i organismen på måter som det er vanskelig å forutsi. Noen stoffer opphever hverandres effekt helt eller delvis (antagonisme), mens andre gir forsterket effekt om de får virke sammen (synergisme, se kapittel 4.8).

I tillegg kan andre stressfaktorer i dyras naturlige livsmiljø øke følsomheten for forurensing i forhold til hva laboratorieforsøk viser. Naturmiljøet selv representerer en viss belastning i form av konkurranse mellom individer/arter i forhold til næringsforhold, reproduksjon og predasjon. I tillegg vil menneskepåførte endringer i miljøet gi belastninger (eksempelvis i form av veier/biltrafikk og ferdsel i sentrale leveområder). Forurensing av flere typer, også forurensing uten direkte genetiske effekter, vil utgjøre

stressfaktorer. Det ovenstående er fremsatt som en hypotese for å forklare skogdød i marginale vekstområder (Huttonen 1984). Et eksempel på en slik resultatteffekt er vist fra Kola. Eksperimenter med rotter og mus, samt målinger av arbeidere i temperert (innendørs) og kaldt (utendørs) miljø viste at følsomhet for flere typer forurensing (bl.a. nikkel og svoveldioksyd) økte med synkende temperatur (Chatchin 1989).

Det er også forskjeller i den individuelle genetiske utrustning med hensyn til mottagelighet for mutagene/karsinogene påvirkninger. Enkelte stammer av forsøksdyr har en høyere spontan frekvens av kreft, og høyere følsomhet for mutagen påvirkning. Frekvensen av spontan og indusert kreft kan være forhøyet hos individer med mutasjoner i ett eller flere gener som styrer celledifferensiering, reparasjonssystemer eller metabolisme (f.eks. variasjon i cyt. P-450). Disse mutasjonene kan oppstå i kjønns-celler og være stabile, og således forekomme hos individer i flere generasjoner. Mutasjonene kan i utgangspunktet ha blitt indusert av et mutagen. Dette har vært vist hos flere stammer av gnagere i forsøk (Bodmer 1986).

3 Metodevalg

Oversikten omhandler de metoder som er mest aktuelle med hensyn til de begrensinger og fordeler som ligger i arbeid med viltlevende dyr. Kun metoder som kan nyttes for *in vivo* studier er beskrevet.

3.1 Generelt om gentoksikologiske metoder

Genetisk toksikologi er studiet av interaksjoner mellom kjemiske eller fysiske agens og de genetiske prosesser (DNA-molekylet og celledelingen). Studier av genetisk toksikologi hos mennesker foregår med tre forskjellige tilnærminger:

1. Testing av forbindelser og blandinger av stoffer som mennesker eksponeres for, i den hensikt å kartlegge et eventuelt genotoksisk potensiale.
2. Mekanistiske studier av kjemiske og fysiske stoffers evne til å forårsake genetisk skade under eksperimentelle forhold.
3. Epidemiologisk kartlegging av sykdommer tilknyttet genetiske prosesser, registrering av resultateneffekt, ved studier av genetiske skader hos personer som er eksponert for en potensielt genotoksisk eksponering (Thilly og Call 1986).

Testing av potensielt genotoksiske forbindelser gir verdifull kunnskap om hvilke stoffer som kan forventes å gi genetisk skade også for viltlevende arter. De mekanistiske studier av kjemiske forbindelser kan det dras nytte av i studier av ville dyr også, ettersom DNA er universelt. De samme begrensinger for overførbarehet fra en art til en annen vil gjelde for viltlevende arter som for mennesker.

Epidemiologiske studier av viltlevende pattedyr vil innebære en litt annen vinkling på problemet. Viltlevende pattedyr har en relativt lav, naturlig forekomst av sykdom, og syke dyr bukker gjerne raskt under og sykdomsforekomst kan derfor vanskelig registreres systematisk. Det enkelte dyrs livshistorie er det også vanskelig å kjenne. Epidemiologiske studier krever informasjon om et høyt antall individer, noe som vil være vanskelig å oppnå hos ville dyr. Mer indirekte mål, som populasjonsdynamiske registreringer (av f.eks. reproduksjonsrate og gjennomsnittlig levealder) må ofte erstatte epidemiologien.

Viltlevende pattedyr er utsatt for færre påvirkninger enn mennesker ettersom de lever i et miljø som kjemisk og fysisk er enklere (-de røyker ikke, drikker ikke alkohol, arbeider ikke med

farlige stoffer). Prøvene vil være vanskelige å få fatt i, ettersom dyra må fanges og eventuelt avlives før prøvetaking.

3.2 Planlegging av en undersøkelse

Både undersøkelser av ville dyr og av mennesker krever et nøye utvalgt kontrollmateriale. For å kunne undersøke genotoksiske effekter av en bestemt eksponering, må gruppen av eksponerte individer sammenliknes med en gruppe individer som ikke har vært utsatt for en slik eksponering. Kontrollgruppen bør være "matchet", det vil si at den er lik den eksponerte gruppen på alle punkter unntatt den variabel man skal undersøke effekten av (Kilian og Picciano 1976).

3.3 DNA-teknikker

Kjemiske forbindelser som har evne til å binde seg kovalent til DNA, kan registreres direkte ved DNA-addukt teknikker (Randerath et al. 1981, Randerath og Randerath 1990). Et DNA-addukt er en kovalent binding av en kjemisk forbindelse til DNA. Metodene er relativt nye, men har allerede fått utbredt anvendelse. Dannelse av DNA-addukter er et av de første trinn i karsinogenesen og mutagenesen. DNA-addukter har vært vanskelige å oppdage, både fordi de forekommer sjeldent i DNA-molekylet, og fordi det ikke har vært tilstrekkelig følsomme metoder for å påvise dem. DNA-reparasjonszymer sørger for å holde frekvensen av addukter lav. For å påvise og kvantifisere DNA-addukter kreves derfor sensitive metoder (Gupta 1984, Park et al. 1989). DNA addukter er påvist for flere organiske karsinogener og for *cis*-Platina (Poirier et al. 1990, Randerath og Randerath 1990).

Aromatiske forbindelser detekteres med DNA-addukt metoder (Park et al. 1989), men DNA-addukter som kjemisk skiller seg lite fra normalt DNA er vanskelig å detektere. Det er mulig at de vanligst forekommende kjemiske former av metaller danner slike "små" DNA-addukter.

DNA-addukter er et uttrykk for en resultateneffekt (se Reddy et al. 1984), og med ³²P-postlabeling metoden (radioaktiv merking av DNA adduktene for deteksjon) kan DNA-addukter påvises uten detaljert kunnskap om den eller de kjemiske forbindelsene som er bundet til DNA (Espelien og Krøkje 1992). Metoden er bl.a. benyttet i undersøkelser av fisk i områder med potensielt genotoksisk forurensing (Farmer et al. 1987, Kurelec et al. 1989 og 1991).

Fleire andre DNA-teknikker er brukt for å studere mutagene effekter av kjemiske forbindelser, men metodene har foreløpig store tekniske begrensinger som vanskeliggjør arbeide med villlevende arter, hvor den eksakte eksponeringsmengde, form og sammensetning ofte er dårlig kjent. På dette feltet er det i dag en rask utvikling, slik at flere metoder etterhvert kan tenkes å bli tilgjengelige.

3.4 Flow-cytometri

Flow-cytometri måler fysiske eller kjemiske karakteristika ved enkeltceller i en væskestrøm som passerer optiske eller elektroniske sensorer. Et stort antall celler (fleire titusen) kan undersøkes. Metoden har vært brukt i kliniske laboratorier for blodundersøkelser og for undersøkelser av kreftceller (se f.eks. Shapiro 1991). I de senere år har metodene vært prøvd i studier av genetiske effekter, og når det gjelder villlevende dyr er metoden interessant av flere årsaker. Prøver til flow-cytometri kan samles inn i stort antall i form av blodprøver, ihvertfall når det gjelder arter som har røde blodlegemer med kjerne (amfibier, krypdyr, fugler). Flow cytometri kan brukes direkte til studier av variasjon i DNA innhold mellom eksponerte og kontrolldyr, eller som støttemetode til andre metoder (Benning et al. 1991, Gillies McKenna et al. 1991, Yamaguchi et al. 1991).

Ved flow cytometri kan DNA-innhold i celler måles. På denne måten kan variasjon i DNA-innhold brukes som indikator på genotoksisk belastning. Ved radioaktiv bestråling kan flow cytometrisk måling av kromosomer gi doserelaterte endringer, dette er funnet ved doser over 100 rad (Fantès et al. 1983).

Lamb et al. (1991) benyttet denne metoden i en undersøkelse av skilpadder som levde i en dam med radioaktivt kjølevann fra en atomreaktor. Skilpadder fra en kontroldam hadde en lavere variasjon i mengde DNA per celle målt ved flow-cytometri. Større konstante variasjoner i DNA-innhold kan også avsløres. I den radioaktivt kontaminerte dammen ble f.eks. to skilpadder med aneuploidi mosaikk (overtallighet av bestemte kromosomer i flere celler) funnet (Georges et al. 1991).

3.5 Cytogenetiske metoder

Dersom begge tråder i DNA-heliksen brytes (dobbeltrådbrudd), kan endringene i DNA-molekylet bli så omfattende de er synlige i lysmikroskop. Feil under kromosomsegregeringen i celledeling kan også gi store endringer i cellens genom. Slike endringer kan studeres ved hjelp av cytogenetiske metoder.

3.5.1 Kromosomaberrasjoner

En av de mest anvendte cytogenetiske metodene gjennom flere år er studier av kromosomaberrasjoner, forandringer i kromosomene. Som cytogenetisk metode har preparering av kromosomer vært nyttig lenge (se f.eks. Hsu og Pomerat 1952), ikke minst til kromosomkartlegging (utvikling av karyotype) av planter og dyr (se f.eks. Gripenberg 1984, Baker et al. 1987, Fontana og Rubini 1990). Ved tilsetning av cellegift kan mitosen (celledelingen) stoppes slik at kromosomene forblir kondensert (i metafasen). Cellegift ødelegger spindelen, som organiserer og trekker kromosomene mot hver sin pol i cellen (Goodenough 1984). Metafasene farges med et kromosomaffinitivt fargestoff som gjør kromosomene synlige i lysmikroskop. Studier av kromosomaberrasjoner kan utføres på mange typer celler, men hos pattedyr er lymfocytter mest anvendt.

Lymfocytene utvikles fra stamceller i benmargen, og har en høy delingsrate. Nye lymfocytter produseres gjennom hele livet. De ferdig spesialiserte lymfocytter deler seg ikke i blodbanen, men kan gå i deling *in vitro* etter tilførsel av mitogen. Mitogenet som tilsettes lymfocyttkulturer ved inkubasjon, ødelegger cellens delingshemming, og cellen går inn i deling (mitosen). Ettersom lymfocytter i blodbanen ikke deler seg, kan kromosomskader akkumuleres og skaden kan registreres flere år etter mutagen belastning (Bigatti et al. 1985).

Kromosomaberrasjoner kan oppstå som følge av eksponering for ulike typer forurensing, men også i enkelte tilfelle i forbindelse med virusinfeksjoner, som meslinger og mononucleose (Gripenberg 1965). I tumorer hos kreftpasienter sees ofte store endringer i cellenes genomer, og disse endringene er delvis spesifikke for kreftutviklingens stadium og for den enkelte kreftform (Heim og Mitelmann 1989). Studier av kromosomaberrasjoner er en arbeidskrevende metode, noe som ofte begrenser antallet mitoser, og dermed den statistiske sikkerhet av undersøkelsen.

En fordel med bruk av kromosomaberrasjoner som metode er at den har stor utbredelse og anvendelse (se f.eks. Bianchi et al. 1982, Anderson et al. 1988), og skadene er delvis spesifikke for eksponeringstype (Forni et al. 1971, Funes-Craviato et al. 1975, Deknudt et al. 1977, Brøgger og van der Hagen 1983, Bender et al. 1988a).

I en eksperimentell undersøkelse var det god korrelasjon mellom kromosomaberrasjoner, målt ved lysmikroskopiske metoder, og variasjon i DNA-innhold, målt med flow cytometri etter eksperimentell bestråling eller tilsetning av kjemiske mutagener (Otto og Oldiges 1980). Denne korrelasjonen er kanskje ikke så over-

raskende, ettersom de variasjonene i DNA som måles ved flow-cytometri av hele celler tilsvarer genommutasjoner (polyploidi), eller tap av eller overtallighet av enkeltkromosomer (aneuploidi).

3.5.2 Båndfarging

Båndfarging av kromosomene kan gi mer detaljerte opplysninger om hvilke områder på kromosomene som skades ved eksponering for genotoksiske kjemikalier. Dette er eksempelvis undersøkt hos lymfocytter ved *in vitro* tilførelse av kjemiske forbindelser med genotoksisk effekt, mitomycin og methyl-metanosulfonat (Brøgger 1974). Båndfarging er svært ressurskrevende, da det krever spesialutdannet personale.

3.5.3 Søsterkromatide utbytte (SCE)

Under første mitose etter prøvetaking kan kromosomene merkes med en baseanalog (5-Bromodeoksyuridin, BrdU). Ved påfølgende farging oppnås en differensiert farging av kromosomenes to kromatider. En eventuell rekombinasjon mellom de to kromatidene kan registreres. Søsterkromatidutbytte er et indirekte mål for mutasjoner og ombyttinger i det genetiske materiale (Brøgger 1982, Bender et al. 1988b), og anbefales også som et supplement eller som en tilleggsmetode til kromosomaberrasjoner ved eksponering for genotoksiner (Bigatti et al. 1985).

3.5.4 Mikrokjerner

Mikrokjerner er betegnelse på en samling av kromosom-materiale som ikke har fulgt cellekjernen ved deling. Mikrokjerner kan studeres etter miljøpåvirkninger som har gitt kromosombrudd eller forstyrrelser på spindelapparatet. Slike forstyrrelser gir fragmenter av kromosomer ("minutes") eller hele kromosomer som ikke følger den normale celledelingen, men blir liggende igjen mellom de to cellene etter celledelingen. Antall mikrokjerner beregnes i forhold til antall celler av samme type uten mikrokjerner (referansepopulasjonen). Metoden er relativt enkel og mindre arbeidskrevende enn studier av kromosomaberrasjoner, og gir tilgang på et betydelig større antall registrerte celler. Mikrokjerner registreres i flere celletyper, men ofte i erythroblaster, og i den senere tid helst i lymfocytter:

Mikrokjerner i erythroblaster

Erythroblaster (forstadium til røde blodlegemer) som nettopp har avstøtt sitt kjernemateriale, er velegnede til mikrokjernestudier, da mikrokjernen blir tilbake etter avstøtning. Metoden er mest brukt i eksperimentell sammenheng, da mikrokjerner i erythroblaster ikke akkumuleres over tid. Ved bruk av metoden på ville dyr vil den derfor gi et øyeblikksbilde av eksponeringen, og ikke gi informasjon om langtidseffekter. Akkumulert effekt kan imidlertid dekkes ved å bruke denne metoden samtidig med studier av kromosomaberrasjoner.

Erythroblast mikrokjernetesten vil egne seg godt for feltforhold, da preparering kan skje i felt (Schmid 1976). Det skal imidlertid trenes til for å skille mellom de forskjellige celletyper i mikroskopet, særlig for å kunne bestemme referansepopulasjonen av erythroblaster. Dette kan gi feil i tolkningen av preparatene.

Mikrokjerner i lymfocytter

Nyere mikrokjerne teknikk er basert på lymfocytter arrestert i to-kjernestadiet (rett etter en celledeling) med cytochalin B. Mikrokjernene vil sees mellom de to opprinnelige kjernene. Referansepopulasjonen blir da to-kjerne celler uten mikrokjerner. Denne metoden gir en sikrere referansepopulasjon enn erythroblast mikrokjernetesten. Både effekter på lymfocytene og effekter på stamcellene til lymfocytene vil kunne påvises. Dermed kan akkumulert skade over tid oppdages i tillegg til korttidseffekter (Fenech og Morley 1985, Norppa et al. 1990, Lindholm et al. 1991).

Anafase cytogenetikk

Anafase cytogenetikk har vært brukt i forhold til mutagener i miljøet. Metoden er relativt enkel og lite tidkrevende, men har vist seg å gi store feilestimeringer av den genotoksiske belastning ved svært lave og svært høye doser hos pattedyr. Anafase cytogenetikk regnes derfor som uaktuell for feltstudier, hvor særlig lavdoseeksponering gjør seg gjeldende (Evans 1985).

3.6 Histologiske metoder

"Smear"-preparater av sædceller fra avlivede dyr kan brukes til å vurdere sæd kvalitet (Gabe 1976). Sæd kvalitet hos menn har sunket i enkelte regioner i den vestlige verden, og dette er satt i sammenheng med økende grad av forurensing (Evans 1985).

3.7 Fosterobduksjon

Obduksjon av fostere med tanke på større misdannelser kan utføres i samarbeid med veterinær. Frekvensen av misdannelser

ser normalt ut til å være lav, men ettersom metoden er rask og enkel, vil det være fornuftig å utføre dette. Som en del av undersøkelsene av rein i Dovre-Rondane etter Tsjernobylulykken ble ca. 50 fosterhjerter fra 1987 til 1989 undersøkt av veterinær, men uten at misdannelser ble funnet. Misdannelser i hjertet er relativt hyppig forekommende hos pattedyr (H. Norløkken pers medd.).

3.8 Populasjonsdynamiske/populasjonsgenetiske endringer

Pattedyr har en sterk grad av seleksjon *in utero*. Mutanter vil dermed avstøtes eller resorberes på et tidlig stadium slik at morens investering i et lite levedyktig avkom minimaliseres. Mutante individer som overlever med handicap i forhold til de normale, vil ofte dø i løpet av den første tiden etter fødselen.

Variasjon i overlevelse gjennom svangerskap, fødsel og første leveuke, (prenatal neonatal og postnatal overlevelse), kan være et uttrykk for variasjon i livsbetingelser, som fødetilgang under drektighetsperioden. En endring i prenatal neonatal og postnatal overlevelse kan også være et uttrykk for mutagen påvirkning i populasjoner hvor andre mål for fruktbarhetsproblemer er utilgjengelige. Å finne spontanaborterte eller dødfødte unger hos viltlevende pattedyr er som regel umulig.

Populasjonsdynamiske endringer ble undersøkt hos villrein i Dovre-Rondane etter Tsjernobylulykken. En nedgang i kalverekruttering på 25% ble registret i 1987 og i 1988, men rekrutteringen i de påfølgende år nærmet seg igjen den normale kalverekruttingen. Drektighetsprosenten sank også i 1988 og i 1989, de simlene som var mest eksponert for radioaktivitet (våren 1986) skulle få sine første kalver (Skogland et al. 1991).

3.9 Oppsummering av metodevalg

Tabell 1 gir en samlet oversikt over de metoder som er beskrevet, og deres anvendbarhet under feltforhold og i arbeid med viltlevende arter. I stikkordsform er fordeler og begrensinger ved metodene nevnt. En mer detaljert beskrivelse av metodene er gitt i det ovenstående.

Ved valg av metoder for genotoksisitets-studier er det vanlig å bruke flere metoder parallelt, for å øke forståelsen for mekanismene bak de genotoksiske effekter. Populasjonsdynamiske registreringer kan sammenlignes med cytogenetiske funn, og eventuelt nivå av DNA-addukter. Samtidig er det viktig å hente

prøver fra et tilstrekkelig stort antall individer, ettersom individuell variasjon i respons ved eksponering for toksiske forbindelser er høy. Nettopp denne variasjonen mellom individer er foreslått nyttet som et mål på effekt, ettersom denne synes å øke med økende eksponering (Depledge 1990).

Tabell 1. Metoder som kan brukes til å studere genetiske effekter hos villlevende dyr, in vivo.

Metode:	Testnivå:	Fordeler:	Begrensninger:
DNA addukter ¹⁾	Molekylært	Direkte måling av skaden på DNA-molekylet	Metoden er under utvikling. Foreløpig lite brukt på ville dyr
Flow cytometri ²⁾	Molekylært/ Kromosomalt/ Celle	Mulig å få stort antall individer og stort antall prøver pr individ	Egner seg som supplement til en direkte test, eller som en test på variasjon i DNA innhold
Mikrokjerner ³⁾	Kromosomalt	Mulig å få stort antall prøver	Godt egnet v. eksp. for tung-metaller, begrenset evne til åvise radioaktivitet/organiske forurensninger
Kromosomaberrasjoner ⁴⁾	Kromosomalt	Veletablert metode, prøvd på en rekke arter	Svært arbeidskrevende
Båndfargede kromosomer ⁵⁾	Kromosomalt	Veletablert, men mest brukt på mennesker	Krever spesialisert teknisk personale
Søster kromatide utbytte ⁶⁾	Kromosomalt	Rask, veletablert på mennesker og forsøksdyr	Gir bare indirekte mål på genotoksisk belastning, egner seg ikke for alle typer forurensning
Anafase cytogenetikk ⁷⁾	Kromosomalt	Rask og enkel	Gir underestimering av effekter ved lave og høye doser
Obduksjon	Individ	Gir informasjon om større skader (solide cancer, misdannelser)	Krever samarbeid med veterinær
Populasjonsdynamikk ⁸⁾	Populasjoner	Gir et bilde av endringer i reproduksjon hos populasjonen	Viser korrelasjoner men ikke årsak-virkning-sammenhenger

1) Randerath et al. 1981, Randerath og Randerath 1990

2) Benning et al. 1991

3) Fenech og Morley 1985

4) Gripenberg 1984

5) Brøgger 1974

6) Brøgger 1982

7) Evans 1985

8) Skogland et al. 1991

4 Metallers genotoksisitet

Omkring 80 av de 105 kjente grunnstoffer i det periodiske system er metaller, men færre enn 30 av disse har vist seg å være toksiske for mennesker (Goyer 1991). Klassisk metalltoksikologi har tidligere vært konsentrert om akutte effekter som følge av høye enkeltexponeringer eller høye yrkesbetingede eksponeringer. I dag er interessen dreid mer i retning av lang-tids og lav-dose-eksponeringer med subkliniske effekter (Goyer 1991). Slike effekter er vanskelige å påvise ettersom symptomene ofte er uspesifikke og kan påvirkes av en rekke faktorer i tillegg til metallforurensing.

4.1 Faktorer som påvirker toksisitet av metaller

Toksisitet av metaller på cellulært nivå avhenger sterkt av hvilken form metallet opptrer i. Organiske forbindelser, slik som alkylforbindelser, er generelt de mest skadelige former. Alkylforbindelser er fettløselige og passerer dermed lett over biologiske membraner. Dealkylering foregår sent, og ekskresjon av organiske former av metaller er gjerne langsommere enn ekskresjon av uorganiske former av de samme metaller (Goyer 1991).

Celler som er involvert i transport av metaller, slik som celler i mage-tarm eller nyretubuli-celler, er spesielt utsatt for toksiske eksponeringsnivå av metaller. Disse cellene har imidlertid beskyttelsesmekanismer overfor enkelte metaller. Ved protein-kompleks dannelse kan toksiske metaller akkumuleres intracellulært i et visst omfang uten at cellen skades (Goyer 1991).

Metall-protein komplekser oppstår gjerne i cellens cytosol, og er kjent for flere metaller (Viarengo 1985). En gruppe proteiner som danner kompleks med enkelte metaller er metallothioneiner. Disse danner kompleks med grunnstoffer i gruppe IB (kobber, sølv og gull) og IIB (sink, kadmium og kvikksølv). I de fleste vertebratceller som er undersøkt gir disse metallene en induksjon av metallothionein, men også enkelte andre stoffer kan inducere metallothionein (glucocorticoider, interferon, interleukin protein kinase C aktivatorer) (Harley 1989).

For toksiske metaller antas kompleksdannelsen å ha en detoksifiserende effekt (Goyer 1991). Det er også mulig at metallothionein har en beskyttelseeffekt overfor frie radikaler som følge av f.eks. ioniserende stråling (Harley 1989). Ved dannelse av oksygenradikaler som følge av autolytiske reaksjoner ved enkelte

bakterieinfeksjoner har metallothionein også vist seg å ha en beskyttelseeffekt, som antas å være knyttet til helt andre aktive seter på proteinet (Peavy og Fairchild 1987). Metallothioneiner har sannsynligvis en fysiologisk rolle i homeostatisk kontroll av kobber- og sink metabolismen (Bremner 1978, Degraeve 1981). Metallothionein overfører sink og kobber til metalloenzymer, og har sannsynligvis en viktig rolle i vekst og utvikling av flercellede organismer, selv om celler i kultur vokser godt uten metallothionein (Harley 1989). Metallothioneiner har spesielt høy affinitet for sink. Kagi og Vallee (1960 og 1961) viste (ved studier av enzymet *in vitro*) at fritt kadmium kan bindes isomorfologisk til sink-setet istedenfor sink. Kvikksølv har enda høyere affinitet til metallothionein enn kadmium og sink (Bremner 1978). En lav dose av et toksisk metall kan inducere syntese av metallothionein (ved økt transkripsjon av genet), slik at toksisk effekt av en større dose reduseres (Cherian og Nordberg 1983).

Essensielle, lavtoksiske metaller danner også proteinkomplekser. Et eksempel er ferritin, som danner intracellulære jern-protein komplekser (Goyer 1991).

Binding av toksiske metaller kan også skje inne i kjernen, til ikke-histon nukleoproteiner. Ved eksponering for enkelte typer metaller vil disse protein-metall kompleksene danne nukleære inklusjonslegemer (Cherian og Nordberg 1983). Dette er påvist for bly, vismut og en kvikksølv-selenat blanding (Goyer 1991). Cherian og Nordberg (1983) anser metallbinding til kjerneproteiner som en cellulær adaptiv respons overfor eksponering for bestemte metaller.

Ved enhver proteinbinding vil den bundne formen av metallet stå i en kjemisk likevekt med den frie formen (Klaassen og Eaton 1991). Den andelen av metallet som er inaktivert, det vil si bundet til et protein, er i kjemisk likevekt med en aktiv andel, som kan gi toksiske effekter på andre cellebestanddeler. Et tilsvarende forhold gjør seg gjeldende ved dannelse av inklusjonslegemer inne i cellekjernen.

Mens inklusjonslegemer i cellekjernen er karakteristisk for eksponering for enkelte metaller, f.eks. kadmium, kvikksølv, sink og kobber, er lysosomale forandringer også forbundet med enkelte metaller, som kadmium og gull (Cherian og Nordberg 1983).

4.2 Målorgan for metaller

Målorgan for metaller varierer etter metallens biokjemiske egenskaper. Metaller med affinitet for beinvev har lang retensjonstid,

slik som bly og radium. Andre metaller holdes tilbake i bløte vev grunnet høy affinitet til intracellulære proteiner. Et eksempel er kadmiium, som danner kompleks med metallothionein i bløte vev (Goyer 1991). Den intracellulære bindingen fører til en reduksjon i den diffusible formen av enkelte toksiske metaller (Cherian og Nordberg 1983). Målorgan for toksiske effekter av et metall kan variere etter metalllets kjemiske form. Alkylkvikksølv er f.eks. nevrotoksisk, mens kvikksølvklorid er nyretoksisk (Goyer 1991).

Metabolismen av toksiske elementer kan følge metaboliseringsveier for kjemisk beslektede essensielle elementer. Dette er tilfelle for bly, som i enkelte tilfelle følger metaboliseringsveien for kalsium. Dette skjer f.eks i sentralnervesystemet (Cherian og Nordberg 1983).

4.3 Metallers effekter på reproduksjon

Toksiske metaller som passerer placenta (slik som metylkvikksølv) kan gi fosterskader direkte (se f.eks Elhassani 1983). Fosterskadene kan skyldes celledød i vev som allerede er utviklet, eller som er i en tidlig utviklingsfase. Skadene kan også skyldes mutasjoner i kjønncellene før befruktning, eller i det voksende foster. Fosterskader kan også oppstå indirekte, som følge av en belastning av giftige metaller hos moren under svangerskapet.

Mens livmoren hos pattedyr før ble sett på som en tett "sekk" som beskyttet fosteret mot alle farer, vet man i dag at livmoren har en mer komplisert funksjon, ikke bare overfor regulering av de nødvendige stoffer for fosteret, men også når det gjelder overføring av skadelige stoffer fra mor til foster (Manson 1986). De fleste ubundne forbindelser passerer placenta ved enkel diffusjon (Wilson 1977). Dette er tilfelle for metylert kvikksølv (Amin-Zaki et al. 1974). For andre stoffer, som kadmiium, fungerer placenta delvis som en barriere ved lavt nivå av eksponering, men høyere eksponering gir en viss overføring til fosteret (Goyer 1991). Enkelte metaller akkumuleres over placenta, slik at nivå i foster er høyere enn i mora. Dette er tilfelle for enkelte dyrearter når det gjelder kobber (**kapittel 5.2.3**).

4.4 Alderseffekter av metaller

Nyfødte som lever på morsmelk har et mer effektivt opptak av metaller enn eldre dyr. Dette skyldes muligens den pinocytotiske aktivitet (opptak av næring til cellene ved hjelp av membranomsluttede vesikler) i tarmen hos nyfødte. Retensjonstiden er også

lengre, kanskje som følge av mindre effektive nyrer (Bremner 1978). Proteinbinding av metaller i morsmelk er muligens årsaken til at radioaktive isotoper av enkelte metaller (radioaktive isotoper av f.eks plutonium, sirkonium, cerium) tas klart mer effektivt opp hos nyfødte dyr enn hos eldre (Jugo 1977).

4.5 Teratogene effekter av metaller

Dersom et metall gir misdannelser hos fosteret, er det tale om en **teratogen** effekt. Medfødte misdannelser hos et foster kan ha mange ulike årsaker, som ofte er vanskelige å oppklare. De egentlige teratogene effekter oppstår ved mutasjoner, celledød eller feil i cellevandring og metabolisme i fosteret. Enkelte stoffer har kjent, direkte teratogen effekt, ofte avhengig av tidspunkt for eksponering. De mest kjente eksempler på dette er ioniserende stråling (Brent 1977) og medisiner med Thalodomid mot kvalme hos gravide. Mens ioniserende stråling gir et vidt spekter av misdannelser avhengig av tidspunkt for eksponering og dose, ga Thalodomid helt spesifikke misdannelser i ekstremiteter. Dette førte til en relativt rask avsløring av årsaken til misdannelsene (Wilson 1977). **Tabell 2** gir en oversikt over teratogene effekter av viktige metaller.

4.6 Mutagene og karsinogene effekter av metaller

Genotoksisitet av metaller er avhengig av at metallet når mål-molekylet som er DNA. Flere kjemiske former av metaller har en sterk kjernesøkende evne, mens andre former av samme metall ikke vil tas opp i cellekjernen. Et eksempel er krom, hvor treverdig krom opptas i liten grad i cytoplasma, og ikke kan påvises i kjernen. Seksverdig krom, derimot, tas i stor grad opp i cytoplasma, og søker kjernen (Borges et al. 1991). Selv om et metall ikke når kjernen, og dermed ikke er direkte genotoksisk, kan det være kreftfremkallende (karsinogent), ved epigenetiske mekanismer (endring av delingsfrekvensen og differensieringsevnen, samt mekanisk irritasjon med vevsforandringer osv).

Mekanismene for metalllets mutagene evne er ofte ikke kjent, men likevel kan økning av mutasjonsfrekvens eller andre genetiske forandringer påvises etter metalleksponering. Dette har sin årsak i at metodene for å studere mutagenese er vanskelige og utilstrekkelige i dag, samt at mutagenese og karsinogenese er svært komplekse prosesser, hvor induksjon av skade kan skje på en rekke stadier (Alberts et al. 1989).

Tabell 2. En oversikt over metaller som har vist toksisk/teratogen effekt på fosteret når den drektige moren er eksponert. Alle data er fra eksperiment, med unntak av humant materiale. Tabellen er basert på Wilson (1977) med oppdateringer.

Metall:	Effekt:	Art:
Aluminium (al)	Misdannelser	Rotte
Arsen (As)	Misdannelser, fosterdød Nedsatt fostervekst	Hamster, mus, rotte, mennesket? ⁹⁾ Mus, rotte
Bly (Pb)	Misdannelser, fosterdød Redusert fostervekst og redusert vekst etter fødsel	Hamster, rotte Rotte, mennesket? ²⁾
Kadmium (Cd)	Misdannelser, fosterdød Redusert fostervekst Redusert vekst etter fødsel	Hamster, mus, rotte Mus, rotte, mennesket? ³⁾ Mus
Kobolt (C)	Misdannelser	Kylling ⁷⁾ , rotte ⁶⁾
Krom (Cr)	Misdannelser, redusert fostervekst, dødfødsel	Hamster v. svært høye doser
Kvikksølv (Hg)	Misdannelser, fosterdød Redusert fostervekst Dødfødsel	Hamster, katt, mus, mennesket? ²⁾ Hamster, katt, mus Hund
Nikkel (ni)	Misdannelser, fosterdød	Hamster
Selen (Se)	Misdannelser	Svin ⁵⁾

1) Bellinger et al. 1991

2) Murakami 1972

3) Friberg 1986

4) Pershagen og Vahter 1991

5) Høgberg og Aleksander 1986

6) Hurley 1977

7) Elinder og Friberg 1986

4.6.1 Metaller binding til DNA

Metallene har forskjellige kjemiske egenskaper, som vanskeliggjør en generell beskrivelse av genotoksisitet. For enkelte metaller er metall-ionet, eller metall-ionkomplekset i seg selv et direkte-virkende mutagen. Andre metaller ser ikke ut til å ha genotoksiske egenskaper. Kadmium er for eksempel genotoksisk, i form av Cd^{2+} , mens magnesium (Mg^{2+}) ikke er det. En forklaring kan være at det genotoksiske metallet har en større evne til å danne kovalent binding med makromolekyler (som DNA), mens ikke-genotoksiske metaller danner ionebindinger, som er mindre stabile (Babich et al 1985).

Bindingen til DNA involverer ofte begge tråder i DNA-molekylet ("kryss-bindende"). Dette er tilfelle for kobber (Cu^{2+}), sink (Zn^{2+}), kobolt (Co^{2+}) og mangan (Mn^{2+}) (Eichorn 1979, Gebhart 1984). *Cis*-diamindiklorplatina ("*cis*-platina") er et eksempel på en kjemisk form av et metall som er kryssbindende i DNA-molekylet. Denne kovalente bindingen kan detekteres ved DNA-addukt analyser, der *cis*-platina-DNA-addukter kan isoleres (Poirier 1990).

Den ionerike delen av DNA-molekylet danner bindinger med svake ioner, som sølv (Ag^{2+}) og kvikksølv (Hg^{2+}). Disse metallene betegnes som chelaterende, d.v.s. at de danner kompleks med DNA-molekylet (Gebhart 1984).

Sterkere ioner, som natrium (Na^{+}), magnesium (Mg^{2+}), og kalsium (Ca^{2+}) bindes kun til fosfatgruppene i DNA-molekylet, og stabiliserer derved heliks-konformasjonen. Ioner med intermediær styrke, som kobolt (Co^{2+}), nikkel (Ni^{2+}), sink (Zn^{2+}), mangan (Mn^{2+}), kadmium (Cd^{2+}), og kobber (Cu^{2+}) kan bindes enten til fosfatgruppene eller til nukleinbasene direkte. Disse ionene kan også danne chelater mellom fosfatgrupper og nuklein-baser (Gebhart 1984).

4.6.2 Punktmutasjoner

En rekke metaller er istand til å indusere punktmutasjoner i *in vitro* test-systemer. Punktmutasjoner i prokariote organismer er kjent for arsen, kadmium, kobolt, krom, cesium, jern, germanium, kvikksølv, irridium, mangan, osmium, bly, platina, rehnium, selen, tellium, vanadium, og sink. I planter og insekter er punktmutasjoner funnet ved eksperimentell eksponering for arsen, barium, kadmium, kobber, jern, kvikksølv, platina, og strontium. I pattedyrbaserte testsystemer er punktmutasjoner blitt påvist etter eksperimentell eksponering for arsen, beryllium, kadmium, kobolt, krom, kvikksølv, mangan, nikkel, bly, og platina (Gebhart 1984).

4.6.3 Andre genotoksiske effekter av metaller

Metaller kan innvirke på baseparingen i DNA, på nøyaktigheten av DNA-syntesen (f.eks. bly og kadmium) (Sirover og Loeb 1976), og ved hemming av RNA-transkripsjon (Babich et al.1985). Flere metaller (kvikksølv, arsen, kobber, nikkel, sink, og bly) har en hemmende effekt på DNA-reparasjon, noe som ble påvist ved at celler *in vitro* ble samtidig eksponert for metaller og ioniserende stråling (f.eks. røntgen eller UV lys). Cellens thiol-er (ikke-enzymatiske cellulære komponenter) synes å ha en viktig funksjon når det gjelder DNA-reparasjon, og enkelte metaller påvirker antagelig cellens thiol-er (se f.eks. avsnittet om krom), slik at DNA-reparasjonen hemmes (Snyder og Lachman 1989).

4.6.4 Klastogene effekter (effekter på kromosomalt nivå)

Flere metaller virker inn på spindeldannelsen under celledelingen, bly og kobber virker på denne måten i planter (Kepaløk, *Allium cepa* i eksperiment) (Fiskesjø 1988). Dette kan medføre aneuploidi (tap/overtallige kromosomer). Spindelskadende metaller reagerer med SH-gruppene under polymeriseringen av tubulin, og hindrer dermed dannelsen av mikrotubuli i spindelapparatet (Babich et al.1985) (se kapitlene 5.1.2 om kvikksølv, og 5.1.1 om bly). I eksperimenter hvor *Allium cepa* er benyttet som testsystem, er metaller (f. eks. bly og kobber) funnet å indusere c-mitose. C-mitoser vil si at celler i deling opphopes i metafasen, som er den samme effekt som tilførsel av enkelte cellegifter (Colcemid og Colchicin) gir (Fiskesjø 1988).

Økning i frekvens av kromosomaberrasjoner er påvist i lymfocytter *in vitro* etter eksponering for flere metaller (f.eks. kvikksølv, aluminium, og bly) og for enkelte metaller er en slik økning i frekvens av kromosomaberrasjoner også funnet hos yrkeseksponerte mennesker (f.eks. bly og kadmium) (Fishbein 1976, Goyer 1991). Metaller induserer mikrokjerner, f.eks. kvikksølv hos yrkeseksponerte mennesker (Babich et al. 1990).

I cellekultur er transformering av normale celler til kreftceller påvist (Babich et al 1985). Bly induserer transformasjon av hamster-embryo-celler (Goyer 1991).

4.6.5 Bakterietester for mutagenisitet

Flere metaller er testet med hensyn til mutagenisitet i bakterietester, og resultatene har ofte vært motstridende. Den mest utbredte bakterietesten, Ames salmonella test (Ames et al. 1975), har ikke kunnet påvise mutagen aktivitet av metaller, med unn-

tak av krom(VI) og nikkel. Det har vært gitt forskjellige forklaringer på dette, men det er nærliggende å anta at binding av metaller til dyrkingsmediet for bakteriene er en sterkt medvirkende faktor til de falske negative resultatene. Dyrkingsmediet inneholder salter som binder (chelaterer) tungmetallene, og essensielle kofaktorer som konkurrerer med metallene ved opptak i cellene (Babich et al. 1985).

4.6.6 Immunreaksjoner

Kvikksølv, gull, platina, beryllium, krom og nikkel gir immunreaksjoner. Immunreaksjoner sees ofte i sammenheng med genotoksiske effekter (Goyer 1991).

4.6.7 Klassifisering som karsinogener (kreftfremkallende stoffer)

Selv om få metaller i dag er klassifisert som mutagene/ karsinogene, er flere metaller kjent eller mistenkt for å ha karsinogene eller ko-karsinogene effekter, utifra sterke indikasjoner i epidemiologiske studier, eller fra eksperimenter med forsøksdyr. Eksponering for flere metaller samtidig er ofte antatt å være karsinogent (Goyer 1986).

Dersom **en** forbindelse/form av et metall har karsinogen effekt, klassifiseres metallet generelt som karsinogent (Goyer 1991). Oversikten i **tabell 3** støtter seg primært på IARC's (1987) oversikt over kreftfremkallende metaller.

Tabell 3. Oversikt over metaller som er klassifisert som karsinogener (IARC 1987). For nærmere detaljer, se kapitlene om de enkelte metaller.

Metall:	Virkemåte:
Arsen (As)	Induserer punktmutasjoner <i>in vitro</i> ²⁾ . Øker frekvens av kromosomaberrasjoner <i>in vitro</i> ³⁾ .
Bly (Pb)	Induserer punktmutasjoner <i>in vitro</i> ²⁾ . Øker frekvens av kromosomaberrasjoner <i>in vitro</i> ¹⁾ .
Beryllium (Be)	Induserer punktmutasjoner <i>in vitro</i> ²⁾ . Øker frekvens av kromosomaberrasjoner og søsterkromatide utbytte ⁴⁾ .
Kadmium (Cd)	Induserer punktmutasjoner <i>in vitro</i> ²⁾ , gir enkelttråddbrudd i DNA ⁵⁾ . Øker frekvens av kromosomaberrasjoner ⁶⁾ , hemmer spindel-dannelse ⁷⁾ . Modifiserer nukleinsyrer direkte, el. ved påvirkning av nukleinsyresyntesen ⁵⁾ .
Krom (Cr)	Depurinering, fragmentering og kryssbinding av DNA ¹⁾ . Induserer punktmutasjoner <i>in vitro</i> ²⁾ . Øker frekvens av kromosomaberrasjoner og søsterkromatide utbytte ⁴⁾ .
Kvikksølv (Hg)	Bindes til puriner i DNA ⁸⁾ . Induserer punktmutasjoner <i>in vitro</i> ²⁾ . Øker frekvens av kromosomaberrasjoner ⁹⁾ , hemmer spindeldannelse og gir mikrokjerner ¹⁰⁾ .
Nikkel (Ni)	Gir DNA-proteinbindinger, kryssbindinger, brudd på DNA ¹¹⁾ , induserer punktmutasjoner ²⁾ . Øker frekvens av søsterkromatide utbytte ¹¹⁾ . Bundet til fosfatgrupper eller direkte til nukleinbaser.

1) Goyer 1991

2) Gebbhart 1984

3) Nordberg og Andersen 1981

4) SFT/AT 1991

5) Sirover og Loeb 1976

6) Evans 1976

7) Friberg og Nordberg 1986

8) Malling og Wassom 1977

9) Fishbein 1976

10) Babich et al. 1990

11) Norseth 1986

4.7 Betydning av livsfase for effekter av metaller

En cellepopulasjons delingsfrekvens vil ha stor betydning for effekter av genotoksisk eksponering. Et kort generasjonsintervall på cellenivå gir reparasjonssystemet kortere tid til å virke. Samtidig er celler i rask deling udifferensierte, og udifferensierte celler har et potensiale for transformering (forvandling til kreftceller) som ferdig differensierte celler mangler. Organismer i rask vekst har høy celledelingsrate og dermed økt fare for genotoksiske effekter. Fostere og nyfødte er derfor ekstra følsomme for genotoksisk påvirkning. Eldre individer har en redusert reparasjonsevne, og faren for genotoksiske effekter av en eksponering vil derfor øke. Også drektige individer har en redusert reparasjonsevne, og dermed økt fare for genotoksiske effekter (Sharma og Das 1986). Det er viktig å rette oppmerksomheten mot de mest følsomme individene, og skille mellom de forskjellige grupper av individer innen en populasjon (Bremner 1978).

Undersøkelser på humant materiale har i stor grad vært knyttet til kreftfremkallende egenskaper ved yrkeseksponering for metaller, mens andre genotoksiske effekter har vært mindre studert. I dag dreies oppmerksomheten mer i retning av lavere eksponeringsdoser, og effekter av andre eksponeringer enn yrkeseksponeringer (Maddox 1990, Roberts 1990, Wolff 1990, Aldous 1990, Evans 1990, Gardner et al. 1990). Med en økende forurensing av naturmiljøet er studier av langtidseksponeringer med lave doser nødvendig. Slike undersøkelser har til nå vært lite utbredt, og bør prioriteres for fremtiden (Bremner 1978).

4.8 Interaksjoner

Eksponering for flere metaller samtidig kan gi andre effekter enn hva som kan forventes utifra effekter av de enkelte metallene (Babich et al. 1985).

Interaksjoner mellom kjemiske stoffer deles inn etter resultateffekt:

1. Additiv effekt. Dersom to stoffer som virker sammen gir effekt som tilsvarer summen av de to stoffenes effekter, er det tale om en additiv effekt ($1+1=2$). Ved måling av søsterkromatideutbytte (SCE) i humane lymfocytter ble en additiv respons funnet når bly og UV-stråling ble gitt samtidig (Sahu et al. 1989).

2. Synergistisk effekt. Dersom to stoffer som virker sammen gir en effekt klart større en den teoretiske summen av de to stoffenes effekter, betegnes det som en synergistisk effekt ($1+1$ større enn 2). Samtidig eksponering for enkelte tungmetaller (Sr, Cd, Hg, Pb og Cu) og radioaktivitet (gammastråling) gav synergistisk effekt på mutasjonsfrekvens hos ris (Reddy og Vaidyanath 1978). Dette er nærmere beskrevet i **kap. 4.8.3**.
3. Antagonistisk effekt. Dersom effekten av ett stoff reduserer/opphever effekten av et annet, er det tale om en antagonistisk effekt: ($1+1$ mindre enn 2). Noen essensielle metaller har antagonistisk effekt i forhold til toksiske metaller.

Ville dyr som har sterkt begrenset tilgang på næring (f.eks p.g.a overbeiting) kan tenkes å komme i en ugunstig mineral/metallbalanse, som kan øke effekten av toksiske metaller.

4.8.1 Effekter av forsurening

Generell forurensing med forsurening vil endre tilgang på metaller, og balansen mellom metallene. Forsuring av jord øker opptak av rubidium, kalium og cesium i planter, mens tilgang på andre metaller/mineraler som kalsium, magnesium og mangan sannsynligvis vil synke (se f.eks. Løbersli 1991).

I områder med sure bergarter og dermed dårlig buffer-evne har forsurening spesielt sterk effekt. Forsuring øker mobiliteten til aluminium og kadmium, mens forsureningen har mindre effekt på bly og uorganisk kvikksølv, som bindes sterkt i humus (Scheuhammer 1991a). For organisk kvikksølv øker derimot tilgjengeligheten ved forsurening. Effekter av forsurening på metallers tilgjengelighet har særlig betydning for akvatiske økosystemer, inkludert pattedyr og fugler som lever i tilknytning til disse (Scheuhammer 1991b).

I bakterietester er det vist at genotoksisitet av metaller også kan variere med pH. Dette skyldes delvis at metallenes kjemiske form, og dermed biologiske tilgjengelighet, varierer med pH (Babich et al. 1985). Dette kan være av betydning for mikroorganismer i f.eks. jord. Nikkeltoleranse hos jordlevende mikroorganismer har vist seg å variere med katione-bytte kapasiteten og pH i jorda. Naturlig sur jord ga toksiske effekter av nikkel ved lavere eksponeringsnivå enn når pH ble økt kunstig (Babich og Stotsky 1982).

4.8.2 Mangel på essensielle metaller

Mangel på et essensielt metall kan øke faren for sykdom som følge av andre forurensningsbelastninger. Selen har beskyttelses-effekt overfor frie radikaler, som er direkte virkende mutagener. Selenmangel øker derfor faren for skader som følge av frie radikaler i cellen (Ringstad 1990). Radikaldannelse er en sentral effekt av radioaktiv bestråling i biologisk materiale (Harley 1991). I Norge er det f.eks. generelt lite selen i jorda (NGU 1991).

4.8.3 Mutagene/karsinogene effekter og interaksjoner

Metaller har ofte blitt tillagt en ko-karsinogen effekt, spesielt der en direkte karsinogen effekt har vært vanskelig å påvise eksperimentelt, mens epidemiologiske studier indikerer en slik effekt (Nordberg og Andersen 1981).

Induksjon av mutasjoner i ris ved eksponering for radioaktivitet og metaller er blitt undersøkt. 7 av de 9 metallene som ble testet ga mutasjoner alene (Sr, Cd, Hg, Ba, Cu, Pb, Fe). Ved samtidig eksponering for metaller og radioaktivitet ble synergistiske effekter påvist for Sr, Cd, Hg, Pb og Cu. Andre metaller viste ikke mutagen aktivitet alene (Mn, Ca), men Mn forsterket effekten av radioaktivitet. Ca derimot, viste en klar beskyttelseseffekt mot den radioaktive bestrålingen, idet mutasjonsraten var ned-satt ved samtidig eksponering for Ca og gammastråling, i forhold til gammastråling alene (Reddy og Vaidyanath 1978).

En samtidig eksponering for radioaktivitet og metaller er i dag kjent for enkelte områder, som fjellområdene i Midt-Norge (Skogland et al. 1992). Det er svært vanskelig å forutsi effektene for pattedyr av en slik samtidig eksponering. På bakgrunn av de ovenfor nevnte eksperimentelle funn, er det svært viktig å undersøke hvilke interaksjoner som forefinnes hos de viltlevende dyr i slike områder.

5 De enkelte metallene

5.1 Viktige toksiske metaller

5.1.1 Bly (Pb)

Bly er et mykt, blåhvitt metall som korroderer langsomt og er en dårlig elektrisk leder. Naturlig bly består av flere stabile isotoper, og endeproduktene av de radioaktive isotopene i uranserien, actinidserien og thoriumserien er stabilt bly. Det eksisterer også radioaktive isotoper av bly, som i tillegg til de toksiske effekter av bly gir skadelige effekter ved radioaktiv stråling (Hammond 1980). Bly i luft stammer fra utvinning av mineraler, pesticider, forbrenning av kull og olje, og spesielt fra forbrenning av blyholdig bensin (Fishbein 1976). Bensin har vært tilsatt tetraetylbly eller tetrametylbly som anti-bankemiddel for bilmotorene (Friberg og Nordberg. 1986). I dag er omfattende tiltak satt i gang for å stanse dette, med overgang til "blyfri" (etter norsk standard mindre enn 0.005% bly) bensin (Fishbein 1976). Slike tiltak har ført til at blyforurensingen har gått ned de siste årene.

Toksisitet generelt

Bly forefinnes i praktisk talt alle biologiske systemer i målbare mengder. Det er ikke funnet noe biologisk behov for bly, men derimot er metallet toksisk (se f.eks. Tsuchiya 1986). En viktig risiko ved toksiske effekter av bly er skader i nervesystemet. Symptomer på akutt blyforgiftning omfatter nerveskader i sentralt og perifert nervesystem, anemi, lever og nyreskader. Ved langtidseksponering for lavere blynivå kan flere subkliniske forgiftningssymptomer sees.

Eksponering for bly skjer hovedsaklig gjennom mat. Barn har et høyere opptak av bly gjennom føden enn voksne, og en lavere utskillelse (Goyer 1991). En slik forskjell i opptak av bly er også kjent fra eksperimenter med rotte (Nyholm 1986). Luftbåret bly fra industriutslipp og bileksos tas effektivt opp via lungene. I blodet er over 90% av blyet bundet til røde blodlegemer. En fraksjon av det bundne blyet ser ut til å være assosiert med cellemembranen, mens en annen fraksjon er bundet til hemoglobin (Goyer 1991).

Den totale kroppsbyrden av bly kan deles i to kinetiske fraksjoner, med forskjellig omsetningshastighet. Den største, og kinetisk sett seneste fraksjonen er skjelettet, med biologisk halveringstid på over 20 år (Friberg og Nordberg 1986). Aldersavhengig akkumulering av bly i skjelett er påvist bl.a. hos menneske, knoppsvane og due (Nyholm 1986, Goyer 1991). I de

bløte vevene finnes en mer ustabil fraksjon, med raskere biologisk halveringstid. I nyrene akkumuleres bly med alderen, men ikke i lunger (Goyer 1991), og heller ikke i lever (Nyholm 1986). Blyinnhold i blod hos mennesker (i USA) er høyest i alderen 6 måneder til 5 år, og i alderen 25 til 54 år (Goyer 1991).

Ved akutt forgiftning eller yrkeseksponering for bly kan nyreskader påvises. Karakteristisk for blyeksponering er nukleære inklusjonslegemer i nyretubuliceller. Disse består av bly-proteinkomplekser, og beskytter muligens cellen mot akutte skader på f.eks. mitokondrier. Disse inklusjonene inneholder den største fraksjonen av det intracellulære bly. *In vitro* dyrkede nyreceller eksponert for bly har fått dannet inklusjonslegemer i cytoplasma, som så vandrer til cellekjernen (McLachlin et al. 1980, Goyer 1991).

Eksponeringsindikatorer

Fordeling av bly i kroppen gjenspeiler det nære kjemiske slektskap med kalsium. De høyeste verdier finnes i ben, dernest i hår, horn, (fjær), nyre og lever. Muskelvev har normalt de laveste verdier.

I nyretubuli kan intranukleære inklusjoner påvises hos smågagere, andre pattedyr og fugler (Holt et al. 1978). Ettersom inklusjonslegemer i kjernen hos nyretubuliceller er tidlige indikatorer på blyeksponering, er de velegnet som biologisk indikator (Goyer 1991). Det betinger at prøver må tas kort etter at døden har inntruffet, ettersom autolyse ødelegger mulighet for å påvise inklusjonslegemene.

Interaksjoner

Absorpsjon av bly avtar med økende nivå av kalsium, fosfor, jern, kobber og sink i føden hos pattedyr og fugler (Barton et al. 1978, se Nyholm 1986).

Reproduksjonseffekter

Bly passerer placenta, og blyinnhold i navlestrengblod hos nyfødte er normalt positivt korrelert med blyinnhold i morens blod, men er noe lavere. Blyinnhold i morens blod synker noe under svangerskapet, som følge av overføring til fosteret (Goyer 1991). Bly overføres også til melk, og til egg hos verpende fugler (Nyholm 1986).

Akkumulering av bly kan også være kjønnsavhengig. Spesielt i forplantningsperioden er dette markant (Nyholm 1986), hos duer er 10 ganger så mye bly funnet i skjelettet hos hunnen som hos hannen under eksperimentell tilførsel av bly i hekkese-

songen (Kendall og Scanlon 1981). Hos hare, smågagere og enkelte fugler er det påvist at hunner akkumulerer mer bly enn hanner. I kombinasjon med DDE eller PCB ser bly ut til å kunne påvirke eggskalltykkelse hos fugl, og DDE i kombinasjon med bly gav spesifikk anriking av bly i beinbygning hos verpende gressender (se f.eks. Nyholm 1986).

Teratogene effekter

Det er rapportert at eksponering for bly under svangerskapet har gitt misdannelser og nevrologiske skader. En økt abortfrekvens ble antydnet i en Japansk undersøkelse. Dette ble imidlertid ikke bekreftet ved en større, epidemiologisk undersøkelse fra Holland, men eksponeringsnivået var lavere (se f.eks. Wilson 1977). Økt fødselstid og svakt senket fødselsvekt hos nyfødte ble funnet i en amerikansk undersøkelse for barn med mer enn 15 mikrogram bly/dl blod (Bellinger et al. 1991). Overføringen av bly til fosteret ser imidlertid ut til å være sterkt forbundet med kalsium i føden. Nyfødte rotter fra mødre føret på kalsiumfattig diett gjennom svangerskap og laktasjon (dieperiode) viste en klar opphoping av bly i skjelettet i forhold til rotter på normal diett, både ved ekstra tilførsel av bly, og uten ekstra blytilførsel (Buchet og Lauwerys 1981).

Fosterhjernen er muligens mer sensitiv for toksiske effekter av bly enn den utvokste hjerne. Fra eksperimenter, og fra autopsi av blyforgiftede barn har det vært indikasjoner på at umodne celler (endothelceller) som danner blodkapillærer i hjernen under vekst er mer følsomme for toksiske effekter av bly enn de ferdig utviklede cellene hos voksne. Den økte følsomhet under fosterperioden gjør gravide til en særdeles sensitiv gruppe når det gjelder blyforgiftning (Goyer 1991).

Mens det kun er indikasjoner på effekter av bly hos fosteret hos mennesker, er teratogene effekter av bly godt kjent fra eksperimentelle studier. En økt frekvens av medfødte misdannelser, og nedsatt fruktbarhet ble eksempelvis funnet hos mus som var eksperimentelt føret med 1% blyacetat (Fishbein 1976).

I akvatiske systemer er sebrafisk foreslått som en standardart for toksisitetstesting. Ved eksponering for bly viste sebrafisk-embryo med og uten eggeskall misdannelser i plommesekk, hjerteregion og ryggstøyle. Samtidig eksponering for kobber hadde en viss antagonistisk effekt, til tross for at egg fra denne fisken er svært sensitiv for lave konsentrasjoner av kobber (Ozoh 1980).

Mutagene/karsinogene effekter

Bly er klassifisert som karsinogen (IARC 1987), med tilstrekkelig

bevis fra forsøksdyr, men ikke fra mennesker. Bly induserer celletransformasjon i hamster-embryoceller (Goyer 1991) og løselige salter av bly har gitt tumorer hos forsøksdyr i flere undersøkelser (Nordberg og Andersen 1981).

Bly opptas generelt i høy grad i celler, og går også inn i cellekjernen. Dermed er muligheten for direkte genotoksiske effekter til stede. Bly ser ut til å gi forstyrrelser i spindeldannelse og indusere c-mitoser, dette er påvist eksperimentelt ved cytogene- tiske studier av sepaløk (*Allium cepa*) (Fiskesjø 1988).

Økt frekvens av kromosomaberrasjoner har vært påvist etter eksperimentell blyeksponering, blant annet tap av kromosomer hos bananflue (*Drosophila Melanogaster*). Under et eksperiment med mus ble økt frekvens av kromosomaberrasjoner funnet ved foring med 1% bly-acetat (Muro og Goyer 1969). Etter dette ble kromosomaberrasjoner hos mennesker undersøkt, men *in vitro* eksponering med blyacetat av humane lymfocytter gav ingen økning i frekvens av kromosomaberrasjoner (Deknudt og Deminitatti 1978). Derimot har økt frekvens av kromosomaberrasjoner vært funnet hos blyeksponerte arbeidere ved blyinnhold i blod på 60 mikrogram eller mer (Goyer 1991).

En mekanistisk forklaring på kromosomskader som følge av eksponering for blyacetat *in vivo* er gitt ved at bly aktiverer lysozymer slik som DNase, eller at bly kan avbryte protein/ATP syntesen som er nødvendig for reparasjon, og dermed potensierer andre mutagener (Malling og Wassom 1977). Dette indikerer at bly, i tillegg til å være karsinogent, også har komutagen/kokarsinogen effekt.

Enkelte blyforbindelser har en direkte effekt på DNA. Blyklorid (PbCl₂) ble funnet å påvirke nøyaktigheten av DNA syntese *in vitro* (nakent DNA) (Sirover og Loeb 1976). Punktmutasjoner som følge av eksperimentell eksponering for blyforbindelser er funnet i prokariote celler og pattedyrceller (Gebhart 1984).

Når det gjelder genotoksiske effekter av bly, er interaksjoner med andre stoffer viktig. Samtidig eksponering for bly og kadmium har gitt en sterk økning i kromosomaberrasjoner hos yrkeseksponerte personer. I eksperimenter har forsøksdyr (ape) foret på kalsiumfattig diett fått en større økning i frekvens av kromosomaberrasjoner ved blyeksponering enn dyr foret med tilstrekkelig kalsium (Nordberg og Andersen 1981).

Ved *in vitro* studier av leukocytter hos mus ble immunrespons registrert som følge av blyeksponering, og immunrespons har også blitt funnet ved eksponering av humane lymfocytter for blyklorid (Borella og Giardino 1991).

5.1.2 Kvikksølv (Hg)

Kvikksølv er et tungt, sølvskinnende metall, som er flytende ved romtemperatur, og som kan frigis i gassform i målbare mengder. Kvikksølv brukes i flere sammenheng i industrien, og har tidligere vært i bruk som medisin (Hammond 1980). Både bly, arsen og kvikksølv har vært kjent i 2000 år, det første tilfelle av yrkesbetinget metallforgiftning er beskrevet av Hippokrates (Goyer 1991).

Det finnes naturlige kvikksølvreservoarer i havet, og kvikksølv frigis fra aktive vulkaner, men viktigste kilde til spredning er bruk av fungicider i landbruket (Hammond 1980). Industrien brukte tidligere store mengder kvikksølv, (særlig i treforedling) og forårsaket store, lokale utslipp. I de senere år har kvikksølvforbruket i f.eks kloralkalifabrikker blitt redusert med omtrentlig 99% (Goyer 1991). Betydningen av dette må imidlertid sees i forhold til økt forbruk av kvikksølvholdige råvarer i metallurgisk industri og kraftverk (Mukherjee 1991). Fossile brennstoffer kan inneholde 1 ppm kvikksølv (Goyer 1991), og brenning av kull, avfall, naturgass og raffinering av petroleumsprodukter gir betydelige bidrag til kvikksølvforurensing (Pacyna og Münch 1991).

Inntak av beiset såkorn er en vanlig kilde til kvikksølvforgiftning hos pattedyr og fugler (Fimreite 1971). Slik beising er ikke lenger tillatt i Norge. I en svensk undersøkelse ble sterkt forhøyede nivå av kvikksølv påvist hos mennesker som levde av fisk forurenset fra lokal industri (Skerfving 1974), mens positiv sammenheng mellom antall fiskemåltider per uke, og kvikksølvnivå i blod og hår er funnet for områder med varierende, lavere grad av kontaminering (Sumari et al. 1972). En av de best undersøkte, epidemisk opptredende metallforgiftninger i nyere tid er kjent fra Japan, hvor mennesker og dyr i Minimata ble forgiftet som følge av metylkvikksølvutslipp (Kutsuna 1968, Tukami 1968).

Toksisitet generelt

Toksisitet av kvikksølv er, som for metaller generelt, avhengig av kjemisk form. Rent kvikksølv tas bare i liten grad opp i tarmen, men atomært kvikksølv (gass) tas opp via lungene. Metallisk kvikksølv tas opp ved innånding, og har affinitet for røde blodceller og sentralnervesystemet. Uorganisk kvikksølv er divalent eller monovalent, absorpsjon i tarmen er lav, og metallet akkumuleres i nyrene. Absorpsjon fra tarm ved svelging av metallisk kvikksølv (fra f.eks termometere) er svært lav. Organiske kvikksølvforbindelser tas i stor grad opp i tarmen og akkumuleres i større grad i hjernen. Metallisk kvikksølv kan imidlertid omdannes til uorganisk, eller omvendt, der de kjemisk-biologiske for-

hold favoriserer en av reaksjonsretningene. Likeledes kan metylering av uorganisk kvikksølv finne sted i naturen. Dette skjer eksempelvis ved hjelp av anaerobe bakterier, som dermed bidrar til at metylkvikksølv fordampes eller tas opp i næringskjeder (Goyer 1991) som igjen kan gi metylkvikksølv-eksponering hos pattedyr og fugler. Ekskresjon skjer via urin og feces, men også ved utånding når det gjelder atomært kvikksølv (Goyer 1991).

Kvikksølv binder seg til en rekke enzymsystemer inne i cellene, blant andre mikrosomale og mitokondrielle enzymer, noe som gir uspesifikk celledød. Kvikksølv har, i likhet med arsen, en spesiell affinitet for ligander som har aktive SH-seter. I leveren danner metylkvikksølv løselige komplekser med cystein og glutathion, som utskilles i gallen og reabsorberes i tarmen. Organisk kvikksølv brytes normalt ned til uorganisk i organismen (Goyer 1991). Uorganisk kvikksølv, men ikke organisk, induserer produksjon av metallthionein i nyreceller. Denne typen metallthionein har en kortere halveringstid enn kadmium-typen. Kvikksølv i nyreceller er lokalisert til lysosomer (Goyer 1991).

Artsforskjeller

Spesielt når det gjelder metylkvikksølv varierer toksikokinetikken sterkt mellom artene. Eksempelvis varierer fraksjon av metylkvikksølv som absorberes og akkumuleres i sentralnervesystemet fra 1% hos rotte til 10% hos mennesket. Også kvalitative forskjeller er vist. Mens sentralnervesystemet er ansett som det kritiske organ for primater, er nyrer og perifert nervesystem de første organer som skades hos gnagere (Friberg og Nordberg 1986). Eksperimentell metylkvikksølvforgiftning hos ekornaper viste at hjerneforandringene tilsvarte det som tidligere er funnet hos mennesker, men hjernebarken var upåvirket, i motsetning til hva som sees hos mennesker (Zook et al. 1979).

Interaksjoner

Selen påvirker effekten av metylkvikksølv. Ved å frigjøre metylkvikksølv fra binding til proteiner redistribueres metylkvikksølv ved selen-tilførsel. En tilførsel av lave selendoser til rotte har medført redusert toksisitet av metylkvikksølv. Samtidig er det vist at selen reagerer med metylkvikksølv i blodet hos pattedyr, og danner $(\text{CH}_3\text{Hg})_2\text{Se}$, bismetylkvikksølv-selenitt, som ser ut til å øke akkumulering av kvikksølv over blod-hjerne-barrieren, og dermed øker toksisiteten av metylkvikksølv (Berlin 1986).

Betydning av livsfase

Symptomer på forgiftning med metylkvikksølv varierer med livsfase hos offeret. Autopsi av hjernen hos tilfeller som endte med

død i Minimata, avdekte forskjeller i utbredelse av hjerneskada avhengig av om individer var forgiftet som voksne, barn, eller under fosterstadiet. Hos voksne var skadene mer spesifikt avgrenset, hos barn noe mer diffust utbredt, mens de medfødte tilfellene hadde en diffus utbredelse av hjerneskadene og ofte underutvikling av hjernen (Takeuchi 1968a og b).

Reproduksjonseffekter

Alle former av kvikksølv passerer placenta. Fra eksperimenter med rotter er erfaringen at metallisk kvikksølv tas opp 40-50 ganger mer effektivt i fosteret enn uorganiske kvikksølv-salter. Dette skyldes sannsynligvis at metallisk kvikksølv er lipidløselig (Goyer 1991). Undersøkelsene viste også at nivå av alkylkvikksølv er omtrent dobbelt så høyt i fosteret som i moren. Metylkvikksølv i røde blodceller hos menneskefosteret er 30% høyere enn hos moren (målt i navlestrengblod ved fødsel). Denne akkumuleringen over placenta gjør fosteret ekstra følsomt for kvikksølv-eksponering, særlig for alkylkvikksølv (Spyker 1972, Goyer 1991).

Kvikksølv er påvist å ha direkte, embryotoksisk effekt (Amin-Zaki et al. 1974, Spyker 1972). Symptomer på kvikksølvforgiftning under fosterperioden er først og fremst knyttet til nervesystemet, med mental retardasjon og motoriske forstyrrelser (lammelser, spasmer) hos barnet, som gjerne manifesteres sterkere over tid (Harada 1968). Også blindhet og hørselshemming har vært registrert etter føtal kvikksølv-eksponering (Amin-Zaki et al. 1974). Flere barn ble født med medfødt metylkvikksølvforgiftning i Minimata, og viste alvorligere symptomer enn mødrene, som hadde svake eller ingen symptomer. Svangerskap og fødsel forløp normalt (Harada 1968). Ved metylkvikksølvforgiftning i Irak etter at flere familier hadde bakt brød av beiset (siden vasket) såkorn (Elhassani 1983), ble noe forlenget fødsel og lav fødselsvekt rapportert (Amin-Zaki et al. 1974).

Amming øker kvikksølv-eksponeringen hos det nyfødte barn, selv om kvikksølvkonsentrasjonen i melk er bare 5% av konsentrasjonen i morens blod (Goyer 1991). Nyfødte barn som hadde fått metylkvikksølv kun gjennom morsmelk hadde høyere nivå av kvikksølv i blod enn mora (Amin-Zaki et al. 1974). Symptomer på forgiftning hos barn som er forgiftet gjennom morsmelk er som symptomer hos voksne som er forgiftet (Goyer 1991), og skiller seg derved fra symptomer hos barn eksponert under fosterstadiet.

Teratogene effekter

Teratogene effekter av metylkvikksølv er funnet i flere eksperimenter med forsøksdyr. Hos mus er åpen gane og/eller hareskår

hyppig forekommende, mens deformiteter i ansiktsregion, manglende lemmer og sterk underutvikling av hjernen også er funnet. Flere oppdelte doser av metylkvikksølv ga økt forekomst av misdannelser hos fosteret, men mindre toksiske effekter hos mora, i forhold til en, større dose (Su og Okita 1976). I en annen undersøkelse viste avkom av mus som var eksperimentelt eksponert for lave doser av metylkvikksølv atferdsmessige avvik uten å ha kliniske symptomer på medfødt metylkvikksølvforgiftning (Spyker 1972). Lave doser av metylkvikksølv til mora ga tilsvarende store effekter på reproduksjon hos fasaner, uten synlige tegn til forgiftning hos mora (Fimreite 1971).

Hos føtal eksponerte individer i Minimata ble overhyppighet av uregelmessig tannsetting funnet. Dette kan tyde på en teratogen effekt på mennesker under organdannende fase av svangerskapet (Murakami 1972).

Mutagene/karsinogene effekter

Kvikksølv er karsinogent (IARC 1987). Metylkvikksølv gir spindel-forstyrrelser og flere typer kromosomaberrasjoner (aneuploidi, kromosombrudd og polyploidi). Kromosombruddene er antagelig forårsaket av en direkte reaksjon mellom kvikksølvforbindelsen og kromosomene (Fishbein 1976). Organisk kvikksølv induserte økt frekvens av mikrokjerner *in vitro* i celler fra fisk. Kvikksølvklorid viste derimot ikke noen slik effekt (Babich et al. 1990). Fra eksperimentelle studier av katter ble både økt frekvens av kromosomaberrasjoner og senket DNA-reparasjons aktivitet funnet i leukocytter etter metylkvikksølv eksponering. Disse funnene ble gjort ved eksponering for doser som var for lave til å gi sentralnervøse symptomer hos forsøksdyra (Berlin 1986). Et studium viste forekomst av ustabile kromosomaberrasjoner i dyrkede hudceller fra mennesker eksponert for metylkvikksølv (Murakami 1972). Metylkvikksølv kan tenkes å forårsake cytogenetisk effekt på fosteret, ettersom metylkvikksølv lett passerer placent, og dessuten distribueres til kjønnscellene hos pattedyr (Skerfving 1970).

Hos mennesker er kromosomaberrasjoner påvist etter metylkvikksølv eksponering ved konsumering av kontaminert fisk (Skerfving 1970). Yrkeseksponering for etylkvikksølv har også gitt økt frekvens av kromosomaberrasjoner (Berlin 1986).

Kvikksølv i form av kvikksølvklorid ($HgCl_2$) er svært potent når det gjelder reaksjon med DNA, men har likevel liten mutagen aktivitet. Punktmutasjoner er funnet i prokariote celler og i pattedyrceller ved eksperimentell eksponering (Gebhart 1984). Kvikksølvklorid induserer enkelttrådbrudd i DNA, dette er vist bl.a., ved alkalisk eluering. I forhold til enkelttrådbrudd indusert av røntgenstråling repareres enkelttrådbruddene etter kvikksølv-

klorid sent. Det har vist seg at kvikksølvklorid har en sterkt inhibitorisk effekt på røntgenindusert DNA reparasjon. DNA-bindingen, samt hemming av DNA reparasjonssystemet, kan forklare den cytotoxiske effekt av kvikksølvklorid (Gebhart 1984). Metylkvikksølv gir interaksjoner med DNA og RNA, og binder seg til SH-grupper. Dette gir forandringer i sekundærstruktur av DNA og RNA. Kvikksølvklorid har vist seg å reagere direkte med DNA ved at kvikksølv-ioner bindes til puriner i DNA tråden (Malling og Wassom 1977).

5.1.3 Kadmium (Cd)

Kadmium ble oppdaget i 1817, ved utvinning av sink. Det har en vid distribusjon i miljøet, både naturlig og som følge av industriell utvinning og anvendelse. Det brukes i galvanisering av korroderende metaller, og som katodemateriale i nikkell-kadmiumbatterier (Goyer 1991). Kadmium er påvist i gjødsel og fungicider (Doyle og Spaulding 1978).

Toksisitet generelt

Kadmium er et svært giftig metall, uten essensiell betydning. Alle kjemiske former er toksiske (Doyle og Spaulding 1978). Opptak, akkumulering og toksiske effekter av kadmium varierer sterkt. Spesielt avgjørende for toksiske effekter av kadmium er alder på individet, næringsstatus og diettens sammensetning. Utilstrekkelig inntak av proteiner og essensielle sporelementer kan øke kadmiumabsorpsjonen. Kalsium-mangel gir sterk økning i toksisitet av kadmium. Ved lavt jerninntak gir kadmium anemi, reduserte jernlager og redusert serumkonsentrasjon av jern. Jerntilførsel forhindrer anemi (Bremner 1978).

Kadmium akkumuleres i organismen, ettersom det ikke eksisterer en homeostatisk utskillingsmekanisme, slik som det gjør for sink (Doyle og Spaulding 1978). Dermed har kadmium også en svært lang retensjonstid. Biologiske halveringstider hos pattedyr er høye. Hos mennesket er halveringstiden i nyrene estimert til 10-14 år (Degraeve 1981). Halveringstid hos mus (organ ikke oppgitt) er 25-100 døgn og hos hund 260-500 døgn (Nyholm 1986). Kadmium akkumuleres i de myke vev, sterkest i nyrene og spesielt i nyrebarken (Goyer 1991).

Kadmium bindes til metallothionein og ser ut til å konkurrere med sink om binding til SH-grupper på flere proteiner (Flick et al. 1971). Det er rimelig å anta at dette skyldes kadmiums nære kjemiske slektskap med sink. De tilhører begge gruppe II i det periodiske system, og har begge tendens til å forme komplekser i tetraeder form (Bremner 1978). Kadmium ser også ut til å ta

plassen til sink på flere metalloenzymer og co-enzymmer (Buell 1975). Kadmium toksisitet er også nært knyttet til sinkmangel, da kadmium muligens hemmer sinkopptak. Akutt kadmiumforgiftning vises ofte først ved proteinuri, og nyresvikt (Nybø 1991).

Kadmium i vilt

Høye nivå av kadmium er påvist i flere viltlevende arter, som elg (Frank 1982), rådyr, hare (Nyholm 1986), hjort (Frøslie 1986) og reinsdyr (Frøslie 1986, Skogland et al. 1992). Kadmium i lever og nyre hos elg i Sverige økte fra 1976 til 1980, men ettersom materialet var ufullstendig og lite, kan en ikke si noe om hvorvidt det var en generell økning i kadmiumnivå hos elg i denne perioden (Frank 1982). Kadmiuminnholdet var i Sør-Sverige høyere i fallvilt enn i domestiserte dyr (Matsson et al. 1981). Denne tendensen er også kjent fra Norge.

Interaksjoner

Ved eksperimenter med Japansk vaktel ble interaksjoner mellom kadmium og flere essensielle mineraler, samt ascorbinsyre undersøkt. Ascorbinsyre sammen med kadmium i foret gav mindre veksthemming enn kadmium alene (Richardson et al. 1974).

Mens sink i flere tilfeller har vist antagonistiske effekter i forhold til kadmium ved samtidig eksponering, har sink og kadmium tilført samtidig til planter (*Vallisneria spiralis*) vist seg å gi synergistiske effekter på cytotoxiskitet (Mukherjee et al. 1990).

Eksperimentelle studier

Ved eksperimentell eksponering tilsettes kadmium ofte til forsøksdyras fôr i form av uorganiske salter, som ikke kan forventes å oppfås i samme grad som organiske salter. Dette gjør det vanskelig å ekstrapolere til det som skjer i naturen, hvor de organiske forbindelsene antas å utgjøre det største problemet. Lav-dose og langtidseksperimenter savnes, og laboratorieforsøkene har derfor liten relevans for den situasjonen en ofte finner i naturlige systemer.

Ettersom det er så mange faktorer som virker inn på opptak og toksiske effekter av kadmium, er det svært vanskelig å sette akseptable grenser for innhold av kadmium i dietten (Bremner 1978). Dette vil gjelde like mye for viltlevende dyr som for mennesker.

Reproduksjonseffekter

Eksperimentelle undersøkelser av kadmiumklorid og effekter på testikkelvev er utført på flere laboratoriestammer av mus og rot-

ter. Skader i testikkelvev varierte med stammer og med tilførsel av andre stoffer, slik som at sink gav en beskyttelseeffekt (Degraeve 1981).

Resorpsjon, dødfødte fostere og forandringer i livmoren er funnet hos rotte og mus som var eksperimentelt eksponert for kadmiumklorid under svangerskapet. Også ved disse studiene ble sink funnet å ha en antagonistisk effekt (Degraeve 1981).

Teratogene effekter

Ferm og Carpenter (1968) har vist at kadmium har teratogen effekt hos hamster, mens placenta har av enkelte forskere blitt betraktet som en barriere for kadmium (Nyholm 1986). Ved forbedrede analyseteknikker er det vist at kadmium overføres til fosteret når moren eksponeres.

I flere undersøkelser av dyr er det funnet placenta-passering, og derpå følgende effekter på fosteret. Teratogene effekter er påvist ved eksperimentell intravenøs tilførsel av kadmium til morydyret (hamster, 2mg kadmiumsulfat/kg). Kadmium gav store misdannelser i kranium og ansikt. Effektene ble klart dempet ved tilførsel av sink samtidig eller kort etter, mens tilførsel av kobolt ikke endret effektene (Ferm og Carpenter 1968). Kadmiumklorid har vist tilsvarende teratogene effekter hos rotter (Degraeve 1981).

Teratogene effekter av kadmium hos mennesker er derimot ikke påvist, men det er en positiv korrelasjon mellom kadmium i moras blod og fosterblodet (Degraeve 1981). Hos industrielt kadmiumeksponerte kvinner i USA ble gjennomgående lav fødselsvekt og enkelte tilfeller av rakitt (benskjørhet) hos nyfødte funnet (Friberg 1986).

Mutagene/karsinogene effekter

Kadmium er klassifisert som et karsinogent metall (IARC 1987), og har særlig gitt kreft i luftveier og prostata hos yrkeseksponerte arbeidere (Nordberg og Andersen 1981). Kadmiumklorid har i eksperimenter gitt tumorer i rotter, både ved injeksjonsstedet og i andre vev (Degraeve 1981, Waalkes et al. 1991). Sink har en mulig antikarsinogen effekt ved kadmiumeksponering (Degraeve 1981).

Kromosomaberrasjoner er påvist hos mennesker etter eksponering for relativt høye nivå av kadmium. "Itai itai" pasienter fra Japan (kadmiumforgiftet gjennom mat og vann) hadde en forhøyet frekvens av kromosomaberrasjoner (Evans 1976). I et område i Kina med forhøyet naturlig nivå av kadmium ble økt fre-

kvens av kromosomaberrasjoner funnet i forhold til befolkningen i et kontrollområde (Tang et al. 1990). Funn av kromosomaberrasjoner i humane lymfocytter har ofte vært knyttet til en samtidig eksponering for flere tungmetaller i arbeidsmiljø (bly, sink og kadmium), mens yrkeseksponering for kadmium alene (i form av kadmiumpigment) ikke har gitt noen økning i frekvens av kromosomaberrasjoner (Nordberg og Andersen 1981).

Ved *in vitro* studier av kromosomaberrasjoner som følge av kadmiumeksponering har resultatene vært noe sprikende. I humane leukocytter ble økt frekvens av kromosomaberrasjoner funnet ved 0.062 mikrogram kadmiumsulfid per ml medium (med særlig translokasjoner og brudd). I hamsterfibroblaster ga lavere eksponering en økning i frekvens av kromosomaberrasjoner, mens en økning i frekvens av brudd og translokasjoner på 20% ble funnet ved 10^{-4} M konsentrasjon av kadmiumklorid. Ved lengre tids eksponering for kadmiumklorid ble økt frekvens av kromosomaberrasjoner funnet i hamster ovarieceller (CHO), ved enda lavere konsentrasjoner (10^{-6} M) (Degraeve 1981). Eksponering for kadmiumklorid *in vitro* ga ikke statistisk signifikant økning i frekvens av kromosomaberrasjoner hos humane lymfocytter (Deknudt og Deminiatti 1978).

Kadmium ser ut til å ha spindelhemmende virkning, noe som er vist eksperimentelt ved eksponering av lam, og ved *in vitro* eksponering av humane lymfocytter. I det siste tilfellet viste det seg at induksjon av metallothionein beskyttet mot den spindelødeleggende effekten (Friberg 1986).

Kadmium modifierer nukleinsyrene direkte eller ved påvirkning av syntesen av nukleinsyrer. Kadmium har spesielt høy affinitet for nukleinbaser, og flere bindeseter er involvert: nitrogen-atomer, ribose-oksygen og fosfat-oksygen atomer. Disse bindingene kan gi opphav til mutasjoner direkte, og enkeltrådbrudd er observert i *E. coli*. I pattedyrceller har en nedbryting av DNA-reparasjonssystemet blitt observert. Nedsatt nøyaktighet av DNA-syntesen, med feil i baseparing er registrert i pattedyrceller (Sirover og Loeb 1976).

Kadmium påvirker også RNA-syntesen, både ved hemming og forsterking av syntesen. Dette er vist både *in vivo* og *in vitro*, både i mikroorganismer, pattedyr og planter (Degraeve 1981). Kadmium hemmer DNA polymerase i eukariote og i prokariote celler (Gebhart 1984). Eksperimentelt har kadmium gitt punktmutasjoner i prokariote celler og i pattedyrceller (Gebhart 1984).

I likhet med bly har også kadmium vist seg å gi immunosuppressor-effekter i *in vitro* eksperimenter med leukocytter fra mus (Koller 1979) og lymfocytter fra mennesker (Borella og Giardino 1991).

5.1.4 Arsen (As)

Arsen er et stålgrått og krystallinsk metall (Hammond 1980). Arsen tilhører alkalimetallene, er nært kjemisk beslektet med fosfor, og antas å kunne ta fosfors plass i enzymer uten å fylle fosfors funksjon (Waser et al. 1982). Kjemisk er arsen nært beslektet med selen, med ett elektron i ett skall som eneste forskjell. Arsen eksisterer i svært mange forbindelser, også naturlig. Transport i miljøet skjer hovedsaklig via vann, men luftbåren forurensing forekommer også (se f.eks. Steinnes et al. 1988, Steinnes 1989).

Kunstig spredning av arsen er først og fremst forårsaket av bruk av arsenforbindelser i jordbruket; insekticider og herbicider, men også smelteverk kan frigi arsenforbindelser (Hammond 1980, Waser et al. 1982). Nivået av arsen i elg, rein og hjort i Norge er relativt lavt (Frøslie et al. 1984). Et unntak er rein i Øst-Finmark, som har forhøyede nivå av arsen som følge av utslipp fra nikkilverkene på Kola (Sivertsen 1992). Lokale, sterkt forhøyede nivå av arsen kan forefinnes, både naturlig som følge av spesielle geologiske forhold, og ved lokale industriutslipp. Dette har i enkelte tilfelle gitt epidemisk utbredte arsenforgiftninger blant mennesker (Friberg og Nordberg 1986).

Toksisitet generelt

Toksisiteten av arsen er avhengig av kjemisk form. Enkelte mikroorganismer kan metylere treverdig arsen. Femverdig arsen tas lett opp av alger og omdannes til organiske former av arsen. Enkelte av disse kan forefinnes i høye konsentrasjoner i fisk og skaldyr. Løselige forbindelser av arsen absorberes raskt ved inhalasjon. Mer tungtløselige forbindelser har betydelig lengre halveringstid i lungene. I mage-tarmkanalen absorberes også lettløselige arsenforbindelser effektivt, mens tungtløselige absorberes dårligere. Uorganisk, treverdig arsen avgiftes i leveren ved metylering. Femverdig arsen reduseres raskt i blodet til treverdig. Treverdig arsen bindes til SH-grupper. En spesifikk retensjon av arsen i hår, hud, slimhinner i øvre delen av mage-tarm, bites-tikler, skjoldkjertel, skjelett og øyets linse er funnet i eksperimenter med dyr (se f.eks. Pershagen og Vahter 1991). Eksponering for treverdig arsen gir høyere nivå i samtlige vev enn femverdig arsen.

Ved fysiologisk pH er treverdig arsen dissosiert som arsensyring, og femverdig arsen som H_2AsO_4 og $H_2AsO_4^{2-}$, dette har betydning for opptak i celler og organer. Fra eksperimenter er kjent at treverdig arsen tas opp i leveren, men ikke femverdig. Treverdig arsen er svært reaktiv og binder seg til flere vevskomponenter, spesielt aktive SH grupper. Derved kan arsen hemme

et stort antall enzymer. Femverdig arsen bindes i mindre utstrekning til vev, men arsenioner kan erstatte fosfat i enzymkatalyserende reaksjoner, som f.eks inngår i mitokondriell oksydativ fosforilyering (Perschagen og Vahter 1991). Ettersom As(V) raskt omdannes til As(III) i organismen gir As(V) likevel de samme effekter som As(III) om enn i noe mindre utstrekning.

Reproduksjonseffekter

Arseen kan passere placenta under hele svangerskapet (Perschagen og Vahter 1991). Navlestrengblod har omtrent samme konsentrasjon av arsen som morens blod hos mennesker. Enkelte studier tyder på at det skjer en akkumulering i fosteret (Wilson 1977), mens andre studier viser like nivå i mor og foster (se f. eks. Perschagen og Vahter 1991). I tidlig fase av svangerskapet ble anriking av arsen funnet i hjernevev hos fosteret (eksperimentelle studier av mus), mens distribusjonen senere var lik moras. Arsen overføres til morsmelk i omtrentlig samme konsentrasjon som i moras blod (se f. eks. Perschagen og Vahter 1991).

Teratogene effekter

Etter relativt høye engangsdoser av arsen (5-12 mg/kg As kroppsvekt) under den organdannende fase, har både misdannelser (skader i sentralnervesystem og skjellet) og fosterdød vært påvist hos drektige mus (Gebhart 1984). Trolig er mennesket mer følsomt for arsen under svangerskapet enn gnagere, som metylerer As-forbindelser mer effektivt til mindre potente teratogener. Kvinnelige ansatte ved et smelteverk med arseneksponering hadde økt forekomst av medfødte misdannelser hos barna, men det er uklart hvorvidt det var arseneksponering alene som har gitt denne effekten (Perschagen og Vahter 1991).

Mutagene/karsinogene effekter

Arseen har karsinogen effekt hos mennesker (IARC 1987). Eksponering ved innånding kan gi lungekreft (Perschagen og Vahter 1991), som sammen med hudkreft er vanlige kreftformer etter arseneksponering (Frost 1972, Tseng 1977). Disse funnene har imidlertid vært vanskelige å bekrefte eksperimentelt på dyr (Goyer 1991). Ved peroral administrasjon har arsen gjerne gitt negative resultater, både ved tester for initiering og promotjon. Ved *in vitro* undersøkelser av genotoksiske effekter hos prokariote og eukariote celler har tre- og femverdig arsen gitt negative resultat, med få unntak. Arsen har gitt punktmutasjoner i prokariote celler, planteceller og pattedyrceller i enkelte eksperimenter (Gebhart 1984), og har gitt hemming av DNA-reparasjon (Snyder og Lachman 1989).

Økt frekvens av kromosomaberrasjoner er blitt funnet hos arsenikkexponerte smelteverksarbeidere og hos medisinbrukere. Pattedyrceller eksponert *in vitro* har også vist økt frekvens av kromosomaberrasjoner etter arsen- og arsenateksponering (Nordberg og Andersen 1981). Frekvensen av kromosomaberrasjoner og mutasjoner i flere eksperimentelle system har økt ved tilsetning av arsenforbindelser sammen med mutagene stoffer, men også antagonistiske effekter har vært påvist (Perschagen og Vahter 1991).

DNA-reparasjonsmekanismene påvirkes av uorganisk arsen, dette indikerer en kokarsinogen effekt. Ved eksperimentell UV bestråling av pattedyrceller ga tre- og femverdige arsenforbindelser en hemming av DNA-reparasjon. I enkelte studier har imidlertid arsen gitt antagonistisk effekt sammen med andre genotoksiske agens (Perschagen og Vahter 1991).

Arseen har antagonistisk effekt overfor toksiske effekter av selen, og omvendt. Når det gjelder genotoksiske effekter, er det ikke vist noen slik sammenheng (Nordberg og Andersen 1981).

5.1.5 Aluminium (Al)

Aluminium er et svært lett, sølvhvitt metall. Aluminium er jordoverflatens vanligste metall og forekommer naturlig i form av aluminiumsilikater (Hammond 1980). Aluminium i disse formene har i svært liten grad vært biologisk tilgjengelig, men ved sur nedbør har biologisk tilgjengelighet for aluminium økt drastisk (Goyer 1991). Aluminium har utstrakt bruk, både i industri og i private husholdninger (Hammond 1980).

Toksisitet generelt

Aluminium er ikke et essensielt metall for levende organismer. Likevel ser det ut til at det eksisterer en viss homeostatisk regulering av innhold i organismens vev og eksponeringen. Ved økt eksponering vil imidlertid en akkumulering skje. Organer som akkumulerer aluminium er lever, nyre og hjerne, men hos mennesker akkumuleres aluminium først og fremst i lunger og skjellet (Ganrot 1986). Aluminiumakkumulering er nært knyttet til kalsiumbalansen (Goyer 1991).

Aluminium påvirker absorpsjon av andre elementer fra tarmen. Fluorid-absorpsjonen hemmes, og jern og kalsium absorberes dårligere ved aluminiumseksponering. Toksiske effekter av aluminium varierer med art og livsstadium hos det enkelte individ.

Mutagene/karsinogene effekter

Aluminium har høy affinitet til kromatin og DNA, og er assosiert med nedsatt DNA-syntese. RNA-polymerase aktiviteten er også redusert ved eksponering for aluminium (Goyer 1991).

Aluminium binder seg til fosfatgruppene i nakent DNA, men denne bindingen ser ut til å hemmes av histoner. Al-3+ binder seg til heterokromatin ved å gå inn istedenfor Mg-2+ på fosfatgruppene. Al-3+ virker stabiliserende på eukromatin, og dermed kondenserende. Studier av DNA-affinitet for aluminium er utført *in vitro* og overføringsverdien av slike forsøk til *in vivo* situasjonen er usikker (Ganrot 1986).

Al-3+ kan binde polyanion, noe som utnyttes ved garving av lær, men som også kan være en årsak til normal aldring av celler. Fra forsøk med planter er økt frekvens av kromosombrudd og anafase-broer påvist. Aluminium kan derfor muligens settes i sammenheng med syndromer som har sin årsak i kromosomaberrasjoner, såsom Downs syndrom, uten at en slik sammenheng er dokumentert foreløpig (Ganrot 1986).

Al-3+ har gitt sarkomer (kreft i bindevev) under bestemte forsøksbetingelser med gnagere, men er ikke klassifisert som humant karsinogen (Ganrot 1986).

5.2 Viktige essensielle metaller

5.2.1 Jern (Fe)

Nest etter aluminium er jern det vanligste metall på jordoverflaten (Waser 1982). I industriell sammenheng er jern det viktigste av alle metaller, siden industrialiseringen av samfunnet i stor grad er basert på anvendelse av jern (Doyle og Spaulding 1978). Metallet brukes sjeldent i ren form, da det korroderer svært lett i kontakt med luft. I legeringer med nikkel, krom, vanadium m.fl. reduseres korrosjonen, og slike legeringer har en utstrakt bruk (Hammond 1980).

Essensiell betydning

Jern er et essensielt metall, og finnes i flere enzymer, bl.a. i hemforbindelser (som i hemoglobin). Det er dessuten et viktig metall i transferriner som er en viktig bestanddel av blodserum. Overskudd av jern lagres i organismen som ferritin eller hemosiderin, særlig i lever, milt og rød benmarg. Jern er en bestanddel i enzymer som katalaser og peroksidaser, og i muskelproteiner og flavoproteiner (Doyle og Spaulding 1978).

Jern i organismen reguleres gjennom homeostatiske mekanismer. Normalt absorberes 2-15% av jernet fra føden, og utskillelse er 0.01% per dag. Under bestemte livsfaser (barn, gravide, blodtap) økes absorpsjon sterkt. Absorpsjon skjer ved to stadier, der jern først tas opp i mucosacellene fra tarmen og så transporteres til transferriner i plasma. Transferrinene transporterer jernet til lagersteder. Av det totale jerninnholdet i kroppen (2-3 g hos mennesker) er det meste bundet til hemoglobin, noe til myoglobin og jernholdige enzymer, og det resterende er bundet til jernlagringsproteinene ferritin og hemosiderin (Goyer 1991).

Mutagene/karsinogene effekter

Jern regnes normalt ikke som et karsinogent metall, men enkelte forbindelser mistenkes for å være karsinogene i større doser. Jern (i form av jern-dextran) har gitt tumorer ved injeksjonsstedet hos rotte og mus, og også tumorer andre steder i kroppen hos kanin. Vevsforandringer har vært påvist ved injeksjonsstedet hos mennesker som har mottatt injeksjoner p.g.a. jernmangelanemi (Haddow et al. 1964). Jern har muligens kokarsinogen effekt hos yrkeseksponerte som er samtidig eksponert for karsinogener (Elinder 1986).

5.2.2 Sink (Zn)

Sink har en utstrakt anvendelse som galvanisering (beskyttelse mot oksydering av andre metaller) ettersom det oksyderes lettere enn f.eks jern (Waser 1982).

I Jarfjord er nivået av sink i lever hos rein høyere enn i andre deler av Finnmark, noe som kan indikere atmosfærisk sink-tilførsel fra Kola, men sinktilførsel til planteetere kan også variere betydelig med beiteplanter (Sivertsen 1992).

Essensiell betydning

Sink er et essensielt metall som inngår i proteinsyntesen, og i over 70 metalloenzymer, og påvirker enzymaktivitet i mange vev (Goyer 1991). Sink er også nødvendig for DNA- og RNA-syntesen (Nordberg og Andersen 1981). Sinkioner stabiliserer plasma og lipidmembraner i cellene, ved enten å binde seg til strukturelle komponenter eller ved metall-katalysert lipid peroksidasjon (Viarengo 1985). Homeostatisk kontroll av sink i organismen er relativt god, og de fleste dyr kan tolerere store mengder sink i føden (Goyer 1991). Sinkmangel gir flere symptomer, avhengig av alder og eventuelle andre mangler på essensielle næringsstoffer. Hos nyfødte barn gir f.eks sinkmangel dårlig sårheling,

hårtap, nedsatt immunforsvar og nevropsykologiske abnormiteter (Goyer 1991).

Toksisitet generelt

Toksiske effekter kan oppstå ved eksponering for store mengder sink. Diaré og andre symptomer fra tarmen har vært rapportert ved akutte forgiftninger, men inntak av 12g metallisk sink over 2 dager gav ikke forgiftningssymptomer hos mennesker. Innånding av sinkgasser har gitt feber, økt svetting og nedsatt vitalitet hos industrielt eksponerte mennesker (Goyer 1991).

Interaksjoner

Sinkkonsentrasjonen i nyrer er positivt korrelert med kadmiu-minnhold. Sink har vist interaksjoner med kalsium, kadmiu-m, jern, kobber og mangan (Doyle og Spaulding 1978).

Teratogene effekter

Mangel på sink hos moren gir teratogene effekter hos rotte. Under første trimester fikk moren immunsvikt, mens fostrene fikk medfødte misdannelser (Hurley 1971). Sinkmangel er i en epidemiologisk undersøkelse også satt i sammenheng med forekomst av schizofreni hos mennesker (Andrews 1990).

Karsinogen og antikarsinogen, samt mutagen effekt

Ved injeksjon av sink direkte i testikkelvev hos rotter og kyllinger, oppstod tumorer, men annen administrasjon har ikke gitt tumorer (Goyer 1991).

En mulig antikarsinogen effekt av sink har derimot vært foreslått, ettersom sink-injeksjoner beskytter mot kadmiu-indusert testikkelkreft hos rotter. På den andre siden har sinkfattig diett gitt redusert vekst av transplanterte tumorer i rotter (Nordberg og Andersen 1981).

I et eksperiment med rekombinant DNA-teknikk ble en nedgang i rekombinasjoner påvist i museceller *in vitro* ved tilførsel av ikke toksiske mengder av sink og kadmiu-m.

Sinkklorid er toksisk for humane lymfocytter *in vitro* ved $3 \times 10^{-3} M$, og en økning i frekvens av kromosomaberrasjoner ble funnet ved 2-100 ganger lavere doser (Nordberg og Andersen 1981).

5.2.3 Kobber (Cu)

Kobber er et rødt metall som har stor betydning for mennesket. Kobber er en god elektrisk leder, og har en utstrakt bruk i elektriske ledninger. Kobbervitriol er brukt som pesticid i landbruket, og som alggift i vannrensing (Hammond 1980).

Kobber er et essensielt metall. Det er viktig under dannelse av røde blodlegemer og som bestanddel i flere enzymer. Kobber er et vanlig element, som finnes i relativt store mengder i vann og mat for mennesker og dyr. Opptak av kobber er påvirket av en rekke uorganiske elementer i føden, f.eks. kalsium, kadmiu-m, sink, jern, bly, molybden og sulfat. Ved molybdenfattig beite kan husdyr få økt akkumulering av kobber i leveren, mens høyere nivå av molybden vil motvirke kronisk kobberforgiftning hos sau (Doyle og Spaulding 1978).

Opptak av kobber fra føden reguleres av kroppens lagre. Kobber transporteres i serum bundet til albumin. Ekskresjon skjer vanligvis gjennom gallen, som spiller en viktig rolle i kobberhomeostasen. Kobber lagres i lever og beinmarg, hvor det kan være bundet til metallthionein. Nyfødte har normalt et høyt nivå av kobber i kroppen. Innholdet av kobber i melk er ikke høyt nok til å opprettholde dette høye nivået slik at nivå av kobber hos barn synker de første årene, for deretter å forbli relativt konstant. I hjernen derimot, doubles nivå av kobber fra barndom til voksen alder (Goyer 1991).

Nivå av kobber hos hjortedyr i Norge er i enkelte landsdeler høyt, nær det nivå som er funnet å være toksisk hos sau. Dette gjelder særlig for elg, rein og rådyr i Trøndelagsfylkene (Frøslie 1986) og for rein i Finnmark (Sivertsen 1992).

Teratogene effekter

Teratogene effekter av forhøyet kobberinntak er ikke påvist, men derimot kan kobbermangel gi utviklingsforstyrrelser hos foster og unge dyr. Hos flere arter akkumuleres kobber over placent, slik at forholdet mellom kobber i leveren hos mor og foster for mennesket er 4:15, rotte 4:6 mens hos kaniner er forholdet motsatt, 6:1 (Goyer 1991). Humane spermier som er eksponert for kobber *in vitro* har nedsatt vitalitet (Aaseth og Nordseth 1986).

Mutagene/karsinogene effekter

Kobber-ionet bindes direkte til makromolekylet ved *in vitro* eksperimenter med DNA eller RNA. Både intramolekylær og intermolekylær binding ("cross-linking") kan påvises (Eichorn 1979).

Kobber senker nøyaktigheten av DNA-syntesen, med økt frekvens av ikke-komplementære nukleotider i DNA-heliks. *In vitro* eksponering av celler for kobber, H₂O₂ og ascorbinsyre samtidig ga en økt frekvens av kromosomaberrasjoner. I planter (*Allium cepa*) er kobber funnet å ha klastogene effekter (Fiskesjø 1988). Kobber regnes ikke som et karsinogent metall (Aaseth og Norseth 1986), og betydningen av DNA reaksjonene for *in vivo* situasjonen er noe uklar.

5.2.4 Mangan (Mn)

Mangan er i ren form et gråhvitt metall. Industrielt brukes det bl. a i legeringer for å bedre egenskaper hos f.eks. jern og kobber (Hammond 1980). Mangan er et essensielt element, og inngår i flere enzymer. Mangan er av de minst toksiske elementene, og sannsynlighet for forgiftning er liten (Doyle og Spaulding 1978).

Teratogene effekter

Teratogene effekter av mangan er ikke kjent, men mangel på mangan hos drektige hunner kan gi skjelettmisdannelser hos foster og nyfødte (Cowgill et al. 1980). Avkom av rotter foret på manganfattig kost overlevde ikke nyfødtperioden, og viste en karakteristisk form for ataxi (bevegelsehemming) (Gebhart 1984).

Mutagene/karsinogene effekter

Eksponering for mangan (MnCl₂ eller MnSO₄) gav mutasjoner i gjærceller under eksperimentelle forhold. Mutasjonene som ble påvist skrev seg etter all sannsynlighet fra mitokondrielt DNA (Putrament et al. 1975).

5.2.5 Selen (Se)

Selen er medlem av "svovelfamilien" og er kjemisk beslektet med svovel. Mens rent selen regnes som lite toksisk, er hydrogenselenitt og enkelte andre selenforbindelser svært toksiske (Hammond 1980). Selen kan frigis i gassform i målbare konsentrasjoner, ettersom smeltepunktet er lavt (Waser et al. 1982). Selen er et sjeldent metall naturlig, men er spredt ved luftbåren forurensing. I områder hvor det utvinnes metaller (kobber, sink, nikkel og sølv) finnes også selen i form av metallsulfid.

Selen er et essensielt metall, og har spesiell betydning for biosyntetese av ubiquinoner, og er den aktive komponent i glutat-

hion peroksidase (Flohe et al. 1984). Selenmangel kan flere steder i Norge være et problem. I Jarfjord i Øst-Finmark inneholder lever og nyre fra rein og elg overraskende mye selen, mer enn i noen tidligere undersøkelser. Dette kan antagelig forklares med tilførsel fra industriområdene på Kola (Sivertsen 1992).

I likhet med mange andre essensielle næringsstoffer er selen toksisk ved inntak av for store mengder. Forskjell mellom nivå som kreves for å dekke essensielt behov og nivå som gir toksiske effekter er for selen liten. Organismen ser likevel ut til å ha en viss evne til homeostatisk regulering av selen (Goyer 1991).

Selen er en kofaktor for glutathion peroksidase, som reduserer peroksyder i cellen. Derved beskyttes cellens membranlipider, proteiner og DNA mot oksydanter eller frie radikaler. På denne måten spiller selen en viktig rolle i flere prosesser som involverer radikaler i cellen, som prostaglandin syntesen og lipid peroksidering (Baumgartner 1984). Selen og vitamin E er sentrale faktorer i immunprosesser (Flohe et al. 1984). Lever og nyre har vanligvis de høyeste nivå av selen. Behovet for selen er til en viss grad avhengig av tilførselen av sink, kobber, mangan, jern og vitamin E, slik at økt tilførsel av disse stoffene øker behovet for selen (Goyer 1991).

Interaksjoner

Selen danner uløselige komplekser med sølv, kobber, kadmium og kvikksølv. Dette gjør at f.eks sølv i foret til forsøksdyr har gitt symptomer på selenmangel, men også at toksisitet av kobber og selen er påvirket av balansen mellom disse to stoffene i organismen (Goyer 1991). Selen regnes som en antagonist til de toksiske effekter av andre metaller (Bremner 1978), som arsen, kadmium, kvikksølv, kobber og thallium, uten at de underliggende mekanismer for dette er kjent (Goyer 1991).

Selen passerer placenta, og kan også måles i melk. Nivå i melk er avhengig av næringsvalg (IARC 1987).

Teratogene effekter

Selen er regnet som embryotoksisk og teratogent, ut fra eksperimenter med dyr. Høy dødelighet hos embryo og medfødte misdannelser hos kyllinger ble funnet i unger av akvatiske fugler i et selenforurenset viltreservat i California (Ohlendorf 1986 a og b). En undersøkelse av pattedyr i samme område viste at flere gnagerarter ikke reproduserte i området, men det var sannsynlig at andre faktorer enn selenforurensing hadde forårsaket dette (Clark 1987). Ved tilsetning av relativt mye selen til føret (5ppm selenitt) ble selen funnet å være teratogent for svin, mens min-

dre mengder selen i dag tilsettes til kommersielt svinefôr for å hindre selenmangel (Høgberg og Aleksander 1986).

Karsinogene og anti-karsinogene effekter

Selenforbindelser er svake mutagener i bakterier, og forårsaker kromosomaberrasjoner og søsterkromatideutbytte i humane celler (Nordberg og Andersen 1981). Selen har gitt økt frekvens av kromosomaberrasjoner og søsterkromatideutbytte, samt hemming av celledelingen i *in vitro* eksponerte humane lymfocytter (Khalil og Maslat 1990).

Selen har tidligere vært klassifisert som karsinogen av USA Food Additive Amendment (FAA), ettersom en økning i flere former av kreft ble funnet ved eksponering for seleniumsulfid hos forsøksdyr (Schroeder et al. 1970). Resultatene fra eksperimenter spriker imidlertid, og i senere tid har antikarsinogene effekter vært tillagt større vekt. Selen regnes i dag ikke som et humant karsinogen (Goyer 1991).

Det har vært antydning at små doser med selen kan ha en inhibitorisk effekt på cancerinduksjon (Frost 1972). Selen har stimulerende effekt på immunforsvaret (Flohe et al. 1984). Exon et al. (1976) fant ikke reduksjon i neoplastisk utvikling hos mus infisert med Rascher leukemi-virus etter tilførsel av selen. Derimot har en antineoplastisk effekt vært vist eksperimentelt ved PAH-eksponering på musehud (Goyer 1991). For virus-induserte kreftformer hos forsøksdyr har selen vist en klar, antikarsinogen effekt (Flohe et al. 1984). Selen har etter en epidemiologisk undersøkelse vært tillagt antikarsinogen effekt mot thyroideakreft (Glattre et al. 1989).

5.2.6 Kobolt (Co)

Kobolt er et stålgrått metall, som ligner jern og nikkel. Metallet brukes i legeringer med bl. a jern og nikkel i produksjon av sterke magneter. Oksyden av kobolt har en vakker blå farge, og har vært brukt til farging av tekstiler og keramikk i århundrer (Hammond 1980). Den radioaktive isotopen kobolt-60 har vært brukt i forskningssammenheng (se f.eks. Bauchinger et al. 1983) som "tracer," stråleterapeutikum, og som bestrålingskilde ved eksperimentell sortsutvikling av planter (Müntzig 1977, Hammond 1980). Kobolt-60 er også en vanlig forurensing fra atomreaktorer (Elinder og Friberg 1986).

Kobolt er et essensielt metall, som bestandsdel i vitamin B-12. Hos drøvtyggere er kobolt en viktig del av B-12 syntesen, mens andre dyrearter er avhengig av å oppta B-12. Vitamin B-12 er

nødvendig for produksjon av røde blodceller. Koboltmangel forekommer ofte hos domestiserte dyr, gjerne i kombinasjon med sinkmangel (Frøslie 1990).

Koboltsalter absorberes effektivt i mage-tarmkanalen. Likevel gir økt eksponering bare lav økning i akkumulering av metallet. Omkring 80% av fordøyd kobolt skilles hos mennesker ut via urin, mens det resterende skilles ut via feces, svette og melk. Rotte derimot, skiller ut over 80% i feces. Fett har høyest konsentrasjon, mens lever, hjerte og hår har høyere konsentrasjon enn andre organer (Goyer 1991).

Teratogene effekter

I eksperimenter med rotter har placenta viste seg å akkumulere kobolt (Elinder og Friberg 1986). Store doser av vitamin B-12 har teratogen effekt på rotter, typisk misdannelse er hydrocephalus ("vannhode") (Hurley 1971). Direkte injeksjon av kobolt i kyllingegg har også gitt misdannelser (Elinder og Friberg 1986).

Mutagene/karsinogene effekter

I eksperimenter med rotte har kobolt gitt kreft i bindevev ved injeksjonsstedet. Kobolt har vært assosiert med kreftforekomst hos industriarbeidere i flere undersøkelser, men det har ligget en stor usikkerhet i eksponering for andre karsinogene stoffer i disse epidemiologiske undersøkelsene. En undersøkelse av arbeidere som kun er eksponert for kobolt er igangsatt i Danmark, hvor cytogenetiske metoder blir brukt (Binderup, pers. medd.).

Fleire *in vitro* genotoksisitetstester har gitt positivt utslag for koboltforbindelser, men også negative resultater har forekommet. Koboltnitrat (III) ga ingen økning i frekvens av kromosomaberrasjoner i humane leukocytter og fibroblaster, men økning i frekvens av kromosomaberrasjoner er funnet etter eksponering for koboltsulfid og koboltklorid *in vitro* hos planteceller (*Sepaløk Allium cepa* og Vikke *Vicia faba*).

I fibroblaster fra kylling ble det påvist mitotiske forstyrrelser som følge av koboltklorid eksponering *in vitro*. I gjær (*Saccaromyces cerevisiae*), bakterier (*Eschericia coli* og *Bacillus subtilis*) er mutasjonraten økt ved eksponering *in vitro* for koboltklorid. Komutagen effekt er påvist med Ames' test (*Salmonella thyphimurium*) (Jensen og Tüchsen 1990). CoCl_2 senker nøyaktigheten av DNA-syntesen *in vitro* (Sirover og Loeb 1976).

5.2.7 Nikkel (Ni)

Nikkel er et blankt metall og brukes sammen med krom for å produsere rustfritt jern. Utslipp av nikkel skjer gjerne i forbindelse med jernutvinning, og annen gruvevirksomhet (Waser 1982). Luftbåren forurensing fra industribyer på Kola har gitt en økning av nikkel i jordsmonn og vegetasjon (målt i mose) i Varangerområdet. Økningen er sterkest nær den russiske grensen, og avtar klart mot Vadsø (Steinnes 1989). På russisk side er gjennomsnittlig nivå av nikkel i luft og vann nær myndighetenes tillatte maksimalverdier (Moiseenko og Kudratsjeva 1989), men "episoder" med spesiell vindretning og nedslag av forurenset luft kan gi sterkt forhøyede verdier. Moiseenko og Kudratsjeva (1989) fremholder nikkel som det dominerende metall fra industriforurensingen på Kola, og beskriver sykdom og metabolske forandringer hos fisk i de mest forurensete innsjøene som en følge av nikkelforurensingen.

En betydelig økning av nikkel i lever og nyre ble påvist hos rein og elg i Jarfjord og Pasvik i forhold til Kautokeino. I Pasvik var de innsamlede prøvene godt distribuert med hensyn på alder, og en akkumulering av nikkel med alderen ble funnet (Sivertsen 1992). I en studie av metallnivå hos hvithalehjort ble høyere nivå av nikkel funnet hos hanner enn hos hunner. En økning i nikkellinnhold med alder ble registrert, men antall dyr var lavt (Woolf et al. 1982).

Toksisitet generelt

Nikkel er regnet som et essensielt metall for pattedyr (Goyer 1991), men tas bare i liten grad opp fra mage-tarm kanalen. Det transporteres i plasma bundet til serum albumin eller andre små, organiske ligander. Etter få dager er ekskresjon gjennom urin nesten fullstendig. I eksperimenter med dyr har nikkel (gitt i føde) raskt blitt distribuert til nyre, hypofyse, lunger, hud, binyre og kjønnskjertler. Intracellulær distribusjon er ikke godt kjent. Nikkel bindes til metallthionein, men gir kun en svak induksjon av metallthionein syntesen i lever og nyre. Et eget nikkel metallprotein er identifisert i enkelte planter (Goyer 1991). Albumin er et viktig transportprotein for nikkel i pattedyr. Et nikkel-alfa-makroglobulin er også kjent (Norseth 1986).

Nikkel tåles godt av pattedyr ved oralt inntak, store doser tilført forsøksdyr har ikke gitt systemiske effekter. Ved inhalasjon derimot, er flere nikkelforbindelser svært toksiske, og gir betennelsesreaksjoner i luftveiene. Nikkel gir også allergiske reaksjoner som astma og kontaktallergi i huden (Norseth 1986).

Interaksjoner

Nikkelmangel hos rotte gir veksthemming og anemi, trolig som følge av redusert jernopptak fra tarmen. Interaksjoner mellom nikkel, kobber og sink ser ut til å være årsaken til at symptomer på nikkel-mangel ikke kan reduseres ved tilførsel av nikkel dersom dyret samtidig får en diett som har lavt innhold av kobber og sink (Goyer 1991).

Teratogene effekter

Nikkel passerer placenta etter oral administrasjon til mus (nikkelklorid). Flere nikkelforbindelser er rapportert å gi teratogene effekter hos forsøksdyr, men slike effekter er ikke påvist hos mennesker (Norseth 1986).

Mutagene/karsinogene effekter

Nikkel er et karsinogent metall, og i nikkelraffineringsindustri har yrkeseksponering gitt kreft i luftveiene (IARC 1987). Ni_3S_2 er mer karsinogent enn "nikkelmonosulfid", NiS (Goyer 1991). Nikkel har gitt transformasjon av celler i kultur. Brudd på DNA-tråden og DNA-protein-kryssbindinger er kjent fra *in vitro* eksponering av hamsterceller. Økt frekvens av SCE er også funnet ved *in vitro* eksponering (Norseth 1986). Nikkel har nært kjemisk slektskap med platina, som danner DNA-addukter i *cis*-form (Poirier et al. 1990).

Når det gjelder karsinogene effekter er også interaksjoner med andre forbindelser kjent. En synergistisk effekt av nikkel ble observert når det ble tilført samtidig med benzo(a)pyren i eksperimenter. En additiv effekt av nikkel og kjemiske karsinogener er funnet i flere undersøkelser (Nordberg og Andersen 1981). Mangan har antagonistisk effekt på den karsinogene effekt av Ni_3S_2 (Nordberg og Andersen 1981).

5.2.8 Krom (Cr)

Krom er et hardt, sølvaktig metall, som brukes industrielt i korrosjonsbeskyttelse, f.eks i rustfritt stål sammen med nikkel (Hammond 1980). I Norge er nivå av krom generelt lavt, med unntak av Øst-Finnmark. Nivået av krom i reinsdyrlever er vist å være høyt i Jarfjord. Kilden er sannsynligvis atmosfærisk tilførsel fra Kola (Sivertsen 1992).

Toksisitet generelt

Krom er et essensielt metall for pattedyr. Mangel på krom kan føre til diabetes, ettersom krom er en glukosetoleranse-faktor (Kieffer 1984).

De toksiske effekter av krom er sterkt avhengig av formen til krom. Seksverdig krom er klart mer toksisk enn treverdig, noe som hovedsaklig skyldes at seksverdig krom opptas i større grad (Jennette 1981, Goyer 1991). Ekskresjon skjer først og fremst via urin (IARC 1987). Hos hvithalehjort har en kjønnsrelatert forskjell i krominnhold, i likhet med nikkelinnhold, i lever vært påvist, hanner hadde gjennomsnittlig høyere nivå av krom enn hunner (Woolf et al. 1982).

Teratogene effekter

Krom overføres til fosteret, som har et noe lavere nivå enn mora ved ikke toksiske nivå. Ved ekstremt høye doser har misdannelser hos fosteret vært påvist eksperimentelt, men dette kan være indirekte forårsaket av toksiske effekter hos moren (IARC 1987).

Mutagene/karsinogene effekter

Krom er klassifisert som et karsinogent metall med tilstrekkelig bevis fra mennesker og forsøksdyr (IARC 1987). Seksverdig krom har vist sikker kreftfremkallende effekt hos mennesket (Enterline 1974, SFT/AT 1991).

I korttidstester har seksverdig krom induisert DNA-skader. Kromtrioksyd (Cr(VI)) induiserte depurinering av DNA (fra kalvehymus, *in vitro*) med økt frigjøring av guanin. I dobbelttrådet DNA (transfeksjon i *E.coli*) ga kaliumkromat (Cr(VI)) mutasjoner. DNA-fragmentering og kryssbinding mellom DNA-trådene har blitt vist i pattedyrceller *in vitro* etter eksponering for seksverdig krom. Seksverdig krom induiserer transformering av pattedyrceller *in vitro*, mens treverdig krom kun er aktivt ved eksponering av nakent (ikke proteindekt) DNA. Nakent DNA vil ved eksponering for treverdig krom endre fysiske-kjemiske egenskaper, og nøyaktigheten av DNA-syntesen senkes (Sirover og Loeb 1976). Seksverdige kromforbindelser har induisert søsterkromatideutbyttinger og kromosomaberrasjoner i en rekke *in vitro* tester med pattedyrceller (SFT/AT 1991). En økt frekvens av kromosomaberrasjoner er påvist i undersøkelser av yrkeseksponerte (Langgård og Norseth 1986).

Mekanismene bak den mutagene evne hos Cr(VI) er bedre kjent enn for de fleste metaller. *In vitro* aktivering av seksverdig krom med thiolere (ikke-enzymatiske cellulære komponenter) har vist at cytokrom P-450 systemet reduserer seksverdig krom til treverdig via femverdig krom. Det er mulig at denne reduksjonen har reaktive intermedieære metabolitter som reagerer med DNA. *In vitro* reduksjon av Cr(VI) gir GSH-krom-DNA og (CYS)2-4-krom-DNA. Ved reduksjon med mikrosomer fra rottelever (Cyt.P-450) dannes krom-DNA-addukter og protein-DNA binding (Borges et

al. 1991). Seksverdig krom er mutagent i Ames test, men ved tilsetning av metaboliserende system fra pattedyr (levermikrosomer fra rotte) ble seksverdig krom redusert til treverdig og dermed deaktivert som mutagen.

Seksverdig krom har også vist kokarsinogen effekt. Samtidig, yrkesmessig eksponering for benzo(a)pyren og krom gav høyere forekomst av kreft enn benzo(a)pyren alene (Nordberg og Andersen 1981).

5.3 Sjeldnere toksiske metaller

5.3.1 Platina (Pt)

Platina har i den senere tid fått anvendelse i flere områder av industrien, f.eks. som sentralt metall i katalysatorer for biler. Platinaforbindelser har også fått anvendelse som antitumor middel. Platina regnes generelt som lite toksisk, men allergiske reaksjoner kan oppstå i forbindelse med yrkeseksponering, medisinering, eller hudreaksjon ved bruk av platina-smykker.

Antitumor-medikamentene består av platina i nøytrale komplekser i *cis*-form. Disse forbindelsene hemmer celledeling og har antibakterielle egenskaper. DNA-syntesen hemmes (Goyer 1991), og *cis*-platina reagerer direkte med DNA ved addukt-dannelse. *Cis*-platina-DNA-addukter har vært undersøkt i flere studier, hvor immunologiske og radioaktive DNA addukt merkemeter har vært brukt. Best deteksjon av platina-DNA-addukter har vært oppnådd ved immunodeteksjonsmetoder (Poirier 1990).

5.3.2 Strontium (Sr)

Strontium er et sølvaktig, mykt metall, som oksyderer svært lett. I pulverisert form selvantenner det i luft. Naturlig strontium består av 4 stabile isotoper (Hammond 1980). Interessen for strontium knytter seg imidlertid først og fremst til de radioaktive isotopene strontium-89 og strontium-90, som har vært frigitt etter prøvesprengninger på 1950-1960-tallet (Eisenbud 1987), og etter Tsjernobylulykken (Wheeler 1988). Strontium er nært kjemisk beslektet med kalsium, og opptak og distribusjon følger tilnærmet kalsiummetabolismen (Eisenbud 1987), strontium har derfor sterk affinitet til skelettet (Waser et al. 1982). Stabil strontium er lite toksisk, men toksisiteten øker ved lavt kalsiuminntak (Jugo 1977).

Radioaktivt strontium avgir gamma- og relativt høyenergetisk betastråling. Fysisk halveringstid er 50 dager for strontium-89,

mens for strontium-90 er fysisk halveringstid 90 år, og biologisk halveringstid høy (Eisenbud 1987). Den radioaktive bestråling av skjelett og benmarg kan gi kreft i leukocyttenes stamceller og i skjelettet.

5.3.3 Cesium (Cs)

Cesium tilhører alkalimetallene, og er sølvhvitt og flytende ved romtemperatur. Cesium reagerer eksplosivt med vann, og cesium hydroksyd er den sterkeste basen som er kjent. Den etser i glass (Hammond 1980). Årsaken til at cesium har fått en stor interesse når det gjelder forurensing, er de to radioaktive isotopene cesium-134 og 137. Cesium-137 har vært spredt globalt som følge av atombombe prøvesprengninger på 1950 og 1960 tallet, og i enda større grad etter Tsjernobylulykken, sammen med cesium-134. Cesium har en stor biologisk betydning, ettersom metallet er kjemisk beslektet med kalium, og erstatter kalium i biologiske organismer. Dette gir intern bestråling av hele organismen (Eisenbud 1987).

Genotoksiske effekter av radioaktivt cesium er studert hos norsk vill og tam rein. En økt frekvens av kromosomaberrasjoner i lymfocytter ble funnet hos tamrein som var eksponert som nyfødte kalver (Røed 1992). Drektige simler og fostre av villrein har muligens også en slik økning i frekvens av kromosomaberrasjoner under de første år etter Tsjernobylulykken (Espelien 1991, Espelien et al. 1993).

Stabilt cesium forekommer enkelte steder i lokale, geologiske anomalier. Dette er f.eks. tilfelle i sentral-Kola, hvor flere sjeldne cesiumholdige mineraler utvinnes (Valentina Baskin, pers medd.). De biologiske effekter av stabilt cesium er lite kjent.

5.3.4 Vanadium (V)

Vanadium brukes i legeringer, særlig sammen med jern, som anvendes i f.eks. atomkraftverk. I plastproduksjon brukes vanadium-pentoksyder som katalysatorer (Lagerkvist et al. 1986).

Vanadium er en naturlig bestanddel i olje, med en konsentrasjon på 500 ppm eller mer. Vanadiumeksponeringer kan derfor tenkes å være høye for dyr i nærheten av oljerigger, landbaserte eller sjødrift. Vannlevende fugler kan også eksponeres for vanadium ved oljesøl fra båter (White og Dieter 1978), mens landlevende dyr kan tenkes eksponert i nærheten av landbaserte oljerigger, lekkasjer på rørledninger over land, og oljesøl fra maskiner/lagre for olje. Vanadium har en naturlig affinitet for fett og oljer, og forefinnes i melk, sjølevende dyr og i planter.

Vanadium er et essensielt metall, og vanadiummangel gir seg utrykk i vekstforstyrrelser og forplantningsforstyrrelser (Schrauzer 1979). Normale nivå av vanadium er svært lave, med høyere nivå i lever og bein enn i resten av kroppen, og ser ut til å være homeostatisk regulert (Goyer 1991). Vanadium regnes for å være relativt toksisk, med diaré og dødsfall ved høye doser (25 mg/kg hos rotte) (Nyholm 1986). Ved yrkeseksponering sees ofte irritasjon av luftveiene, øynene og huden. Allergiske reaksjoner som eksem og astma er også vanlig (Lagerkvist et al. 1986).

White og Dieter (1978) anbefaler skjelett (femur) og lever som indikatorer for kronisk vanadiumeksponering. Fettet er imidlertid den del av organismen som har høyest akkumulering av vanadium (Goyer 1991).

Vanadium er muligens teratogent. Unormal utvikling av skjelettet er funnet hos avkom av syrisk hamster som er eksponert i midtre del av svangerskapet (Lagerkvist et al. 1986).

5.3.5 Beryllium (Be)

Beryllium er et av de letteste metallene, med høyt smeltepunkt. Metallet er stålgrått, ikke magnetisk, mer elastisk enn jern, og oksiderer lite ved romtemperatur. Metallet brukes i legering med kobber. Denne legeringen brukes bl. a. i elektriske kontakter (Hammond 1980). Andre legeringer som ofte benyttes er med nikkel/kobolt, bly, jern eller sølv. Berylliumlegeringer brukes i røntgenutstyr, i kjernefysiske våpen, i luftfartsteknikk og romteknikk, samt i audio-visuelt utstyr. Beryllium forekommer naturlig i form av silikater. Det er lite spredning av beryllium i luft, med unntak av lokal spredning nær berylliumindustri. I vann forefinnes økte nivå av beryllium særlig nær avfallsplasser og ved papirindustrier. Beryllium finnes naturlig i jord, og tas særlig opp av sopp. Ellers finnes de høyeste nivå av beryllium i matvarer som muslinger og enkelte frukter (IARC 1987).

Metallet er svært toksisk (Hammond 1980), spesielt ved inhalasjon (Reeves 1986). Hos yrkeseksponerte arbeidere er eksponering for beryllium årsak til toksiske effekter i luftveiene, samt hypersensitivitetsreaksjoner i huden (Goyer 1991). Beryllium hemmer flere enzymer, og påvirker også nøyaktigheten av DNA-replikasjonen (Reeves 1986). Det er funnet en økt krefthypighet hos berylliumeksponerte arbeidere (Stoeckle og Mancuso 1974). Beryllium er karsinogent (IARC 1987) med tilstrekkelig bevis fra forsøksdyr.

5.3.6 Antimon (Sb)

Antimon er et metalloid med blålig skjær i sin rene form. Antimon brukes i ren form som halvleder, men er også vanlig brukt i legeringer. Mekanisk styrke av bly økes betraktelig ved antimonlegering. Antimon brukes også i flammehæmmende materialer, og i keramiske glasurer (Hammond 1980). Antimon brukes i fyrstikkhoder (Waser 1982). Antimon er vanlig i luftforurensing, men mennesker eksponeres hovedsaklig gjennom maten. Antimon har ikke essensielle egenskaper, og er toksisk, men ser ikke ut til å være blant de mest toksiske metaller. Antimon tilhører samme periodiske gruppe som arsen, og metabolismen i organismen er sannsynligvis liknende arsens.

Eksperimentell føring av rotter med antimon har gitt økt tumorinduksjon. Økt nivå av kromosomaberrasjoner har vært påvist i humane lymfocytter ved *in vitro* eksponering for antimon, og antimon regnes som et mulig humant karsinogen (Elinder og Friberg 1986). Embryoceller fra syrisk hamster ble transformert ved antimonacetat behandling (Goyer 1991).

5.3.7 Barium (Ba)

Barium forefinnes i geologiske anomalier som lokalt kan gi et stort bidrag til forøkte bariumnivå i føde for ville dyr. Rein i sentral-Kola beiter i områder med mye barium (V.Baskin pers. medd.) Barium forefinnes også i relativt høye nivå i boreslam, og utgjør dermed en del av forurensingen omkring boreplattformer. Barium brukes i kontrastvæsker ved røntgenundersøkelser (Waser et al. 1982).

Barium er en muskelgift, som gir overstimulering og senere paralysis ved akutt toksiske doser. Barium har en antagonistisk effekt i forhold til kalium, og blokkerer natrium-kalium pumpa i cellemembranen. Barium er ikke mutagent i bakterietester (Ames Salmonella mutagenisitetstest) (Gebhart 1984).

6 Metallforurensing i norsk natur

Tradisjonelt har sørlige og sørvestlige deler av Norge vært regnet som de områdene som hadde høyest nivå av tungmetaller (Steinnes et al. 1988). Mye tyder på at også andre deler av landet i dag har en betydelig metallforurensing.

I Øst-Finnmark har en økning av tungmetallforurensingen funnet sted som følge av sovjetisk industriaktivitet på Kola (Sivertsen 1990). Nivået av flere metaller har blitt undersøkt i lever og nyre fra tamrein, elg og sau i Finnmark. Dyr fra Vest-Finnmark ble sammenliknet med dyr østfra for å spore eventuelle forskjeller i metallnivå. Enkelte metaller var klart mer forhøyet i dyr fra Øst-Finnmark, mens andre metaller fulgte den forventede nord-sør gradienten for langtransportert forurensing fra Sentral-Europa.

Rein fra Jarfjord i Øst-Finnmark hadde 10 ganger mer arsen i lever enn dyr fra kontrollområdet, Reisa/Kautokeino. Dette er det høyeste nivå av arsen som er funnet i storvilt i Norge til nå. Det er påvist en økning i atmosfærisk nedfall av arsen fra Kola i dette området. Nivå av krom, nikkel, kobber, kobolt, selen og sink var også forhøyet i Øst-Finnmark. Dette korresponderer godt med den kartlegging av forurensing som er oppstartet i grensnære deler av Russland (Kismul et al. 1992). Aluminium, bly, kadmium og kvikksølv var høyere i vestlige (kystnære) strøk av finnmark. Dette er som forventet ved langtransportert forurensing fra Sentral-Europa (Sivertsen 1992).

Sunde og Haldorsen (1990) har påvist en forhøyet risiko for kreft i skjoldbruskkjertelen hos innbyggere i Pasvikområdet, og antyder at det kan være en forbindelse mellom den økte kreftforekomsten og forurensingen fra Kola.

I 1988 hadde nedbørmålingsstasjonen på Hummelfjell (nær Dovre-Rondane) landets høyeste nivå av kadmium (SFT 375/89). Villreinen i Dovre-Rondane fikk også en betydelig radioaktiv kontaminering fra Tsjernobylulykken, ettersom nedbøren kom fra sørøst (Skogland 1991). Nivå av flere tungmetaller i lever og nyre hos voksne og fostere av villrein er målt i 1983-84 (Frøslie et al. 1984, 1986) og i 1987-91 (Skogland et al. 1992). Forskjeller i metalleksponering mellom Hardangervidda-Setesdalsheiene og Knutshø-Rondane er små, med noe høyere eksponeringer i Sør- enn i Midt-Norge.

Med dagens belastningsnivå står pattedyr i enkelte områder i Norge i fare for å ha en samlet eksponering som kan gi geno-

toksiske effekter. Villreinen er kanskje allerede eksponert for genotoksisk nivå av kadmium og spesielt radioaktivitet (Espelien et al. 1992 og 1993). Hardangervidda har en ikke ubetydelig langtransportert metallforurensing, og mulige genotoksiske effekter av dette hos villrein bør undersøkes. Øst-Finmark har også et høyt nivå av enkelte karsinogene metaller.

7 Konklusjon

Induserte mutasjoner som følge av en viss mutagen belastning har bidratt til evolusjonen. En forhøyet mutagen belastning utover et naturlig bakgrunnsnivå vil gi økt mutasjonsrate i en populasjon. Under naturlige forhold, med en bortseleksjon av skadde gener vil en forhøyet mutasjonsrate på lengre sikt gi en redusert genetisk diversitet, ettersom en høy mutasjonsrate vil begrense mengden av proteiner som et genom kan kode for (Alberts et al. 1989).

Fleire metaller (f.eks. bly, kadmium, kvikksølv, arsen, kobber, krom, nikkel og kobolt) har vist seg å ha genotoksiske effekter i eksperimenter, i en eller flere kjemiske former. Noen av disse metallene er også klassifisert som karsinogener (bly, kadmium, kvikksølv, arsen, krom, nikkel og beryllium) (IARC 1987). Ikke-essensielle, toksiske metaller som er klassifisert som karsinogener kan sies å representere en særskilt trussel for naturmiljøet, ettersom de har et potensiale for å indusere genetiske skader ved lave doser.

Svært ofte er effekter av eksponering for flere typer av forurensing den reelle situasjon for ville dyr. Dette kan gi interaksjoner som er svært vanskelig å forutsi. Synergistiske, genotoksiske effekter av radioaktivitet og metaller er f. eks. funnet i eksperimentell eksponering av planter (Reddy og Vaidyanath 1978), noe som viser at det er ekstra grunn til bekymring når ville dyr eksponeres for flere genotoksiske faktorer samtidig. Faktorer i dyrenes levemiljø vil også spille en rolle (Wren 1983). For flere toksiske metaller er dyrets alder, næringsstatus og sammensetning av dietten helt avgjørende for den toksiske effekt av et metall. Dette er f.eks. tilfelle for kadmium (Bremner 1978).

Denne litteraturgjennomgangen har vist at de generelle toksiske og essensielle virkninger av metaller til en viss grad er kjent på eksperimentelt nivå, og det er også foretatt studier av viltlevende arter.

Med hensyn til genotoksiske effekter av metaller er vår viten mer begrenset, ihvertfall når det gjelder situasjonen *in vivo*. Binding til DNA *in vivo*, den ultimate mutasjonsfaktor for kjemiske forbindelser, er for de fleste metaller (med unntak av *cis-platina*) ukjent. En slik kunnskap savnes sterkt, og det er derfor viktig å utvikle metoder som kan påvise DNA-binding for metaller.

Kunnskapen om genotoksiske effekter hos viltlevende dyr er generelt dårlig. Viten om genotoksiske effekter som følge av tungmetalleksponering i biologiske systemer er svært liten.

På bakgrunn av dette er det klart at studier av villlevende dyr har høy biologisk relevans, og er nødvendig for å forstå effektene av forurensing i naturlige økosystemer. Ved å arbeide med villlevende dyr oppnås et godt bilde av den reelle situasjon, ikke bare *in vivo*, men i en økologisk sammenheng. Om ikke dose kan beregnes eksakt, kan den relative resultatteffekt vises ved å sammenlikne områder som har fått ulikt nivå av potensielt genotoksisk belastning. Den best egnede enkeltmetoden for undersøkelse av genotoksiske effekter er i dag kromosomaberrasjonsstudier. Denne metoden bør kombineres med mikrokjerne-testen, og/eller DNA-addukt-studier (for organiske genotoksiske forbindelser) for å gi et bredere bilde av den genetiske skaden. Forandringene på molekylært/cellebiologisk nivå må korreleres med populasjonsdynamiske forandringer dersom den reelle forurensingsøkologiske effekt skal kunne vurderes.

8 Ordliste

- Aneuploidi:** Kromosomantallet i cellen avviker fra det normale.
- Autolyse:** Ødeleggelse av en celle ved at cellens nedbrytningsezymer kommer ut av kontroll (som ved bakterie/virusinfeksjoner).
- Baseanalog:** Kjemisk forbindelse som er svært lik en av de fire naturlige basene i DNA molekylet. En baseanalog kan inkorporeres i DNA og derved skape mutasjoner.
- Cis-Platina:** Nøytrale komplekser av tungmetallet platina i *cis* form som brukes i kreftbehandling. *Cis*-platina hemmer celledeling og virker antibakterielt.
- Cancerinduksjon:** Påvirkning kan gi cancer=kreft.
- C-mitose:** Opphoping av celler i metafasen (der kromosomene er synlige) på samme måte som enkelte cellegifter, som Colchicin og Colcemid ("Colchicin-liknende mitose").
- Dealkylering:** Tap/fjerning av en alkylgruppe.
- Embryotoksisk:** Stoffer som har gifteffekt på fosteret, men uten å gi spesifikke misdannelser.
- Frie radikaler:** Molekyler som har et ekstra, overflødig elektron. Svært reaktive forbindelser.
- Genotoksiner:** Stoffer som har gifteffekt på det genetiske materiale.
- Histoner:** Proteiner assosiert med DNA i kromosomene.
- Initiering (av kreftceller):** En mutagen faktor som gir opphav til en mutasjon som omformer en normal celle til en celle i forstadium til kreft.
- Intrauterin:** "I livmoren"
- In utero:** "I livmoren"
- Karsinogen:** Stoff som kan fremkalle kreft.
- Karsinogenese:** Prosessen som fører til kreft.
- Kokarsinogen:** Et stoff som gir økt kreftforekomst ved samtidig eksponering for et kjent karsinogen.

Kromatide: En halvdel av et kromosom.

Kromosomaberrasjoner (CA): Skader/forandringer på kromosomene.

Laktasjon: Den perioden pattedyrmora gir morsmelk til avkommet.

Metylering: En kjemisk reaksjon der et stoff tilføres en metylgruppe.

Mikrokjerner: Samling av kromosom-materiale som ikke har fulgt cellekjernen ved deling.

Mikrosomale enzymer: Enzymer som kan isoleres fra mikrosomfraksjonen ved tetthetsgradient-sentrifugering av celler. Mikrosomfraksjonen består av membran-omsluttede vesikler og er ikke noe egentlig celleorganell.

Mikrotubuli: Rør/stavformede strukturer i cellen. Organiserer f. eks. celledelingen ved spindeldannelse.

Mitokondrielle enzymer: Enzymer som finnes i mitokondriene.

Mutagenese: Prosessen som fører til at en mutasjon oppstår.

Neoplastisk vev: Nydannet vev som ikke har en funksjon i kroppen.

Pinocytotisk aktivitet: Opptak av næring til cellene ved hjelp av membran-omsluttede vesikler.

³²P-postlabelling: En radioaktiv merkemethode som brukes for deteksjon av kovalent bundne kjemiske forbindelser i DNA (DNA-addukter).

Promosjon: Aktivisering av en initiert celle, som derved forvandles til en kreftcelle.

Promotorsekvens: -På DNA. Et område på DNA som styrer et gen, dvs. styrer transkripsjonshastighet.

Proteinuri: Proteiner i urinen.

Punktmutasjon: Forandringer i små områder på DNA molekylet. En base er tapt, byttet ut eller tilført. Alternativt definert som alle mutasjoner som innebærer endringer i mindre enn 50 baser i DNA molekylet.

Spindel: Mikrotubulstruktur som organiserer kromosomene under celledelingen.

Spindelhemming: Stoffer som hindrer normal dannelse av spindel, f. eks. ved å hemme dannelse av tubulin.

Søsterkromatider: De to halvdelene av et kromosom.

Søsterkromatideutbytte (SCH): Homologe kromatider i ett kromosom har byttet plass.

Teratogen effekt: Skader på fosteret som gir seg utslag i synlige misdannelser eller misdannelses-syndromer.

Thioler: Ikke-enzymatiske cellulære komponenter.

Toksisk: Giftig

Toksisitet: Grad av giftighet.

Toksikologi: Læren om stoffenes giftvirkninger på biologiske organismer.

Transformerte celler: Celler som er forvandlet fra normale celler til kreftceller.

Transkripsjon: "Avskrift" fra DNA til RNA.

Tubulin: Komponent i mikrotubuli

9 Summary

Genetic effects of metals are usually studied experimentally in genotoxicity tests, carcinogenicity tests and reproduction studies. These effects have not often been studied in wildlife. This report gives a literature review on genotoxic effects of metals, including interactions between metals and other kinds of naturally occurring exposure. The report also gives a review of methods used for studying genotoxicity that can be used in wildlife.

Since certain metals are known to be genotoxic and carcinogenic to experimental animals and man, there has been some concern about the potential for genotoxic effects of metal pollution in wildlife. Exposure to metals is an important part of the wild animals' total exposure, not at least because the metals also are known to vary naturally.

The metals are a group of elements with diverse chemical properties. Also, the genotoxic potential of the metals are highly diverse. The metal ion or the metal ion complex is often a direct-acting mutagen, in contrast to many organic genotoxicants. But some metal ions are genotoxic, while others are not. As an example, cadmium (in the form of Cd^{2+}) is genotoxic, but magnesium (in the form of Mg^{2+}) is not. A possible explanation for this is that the genotoxic metal has a greater potential for binding covalently to macromolecules (like DNA) as non-genotoxic metals forms ion-bonds, which are of a markedly less stable character.

Interpretations of population-related data, like epidemiological studies, cannot alone sort out the cause of genetic damage, only indicate an explanation. It is also important to choose methods that measure the target for genetic effects. This target is primarily the DNA-molecule.

Genotoxicity can be studied on several biological levels, on the molecular, cellular, or population level. A combination of methods will be necessary in larger studies. The choice of methods will be limited by factors such as laboratory facilities, and the handling of samples in the field while performing genotoxicity studies in wild animals with a potential mutagen/carcinogen exposure.

The binding of a mutagen directly to DNA can be studied by newly developed methods. Several metals bind covalently to DNA (forming DNA adducts), and these DNA-adducts can be isolated and investigated. At this time certain limitations exist in the kind of adducts to be detected. Bulky adducts and adducts

involving rather "big" molecules of genotoxicants, are easily detected, while most of the metal adducts can not be detected.

Another possibility is to choose a method which has become an internationally standardized method for dosimetry and screening of genotoxicants of many kinds. One such method is the study of chromosome aberrations. Chromosome aberrations in blood lymphocytes are regarded as an indicator of exposure for one genotoxic chemical, or for a complex mixture of substances. Such an exposure situation is often prevalent for wild animals. Studies of chromosome aberrations is a sensitive method, and it measures the effect *in vivo*.

The micronucleus test, based on double-nucleus lymphocytes, is a registration of lost genetic material, whole or fragments of chromosomes remaining outside the cell nucleus after cell division. The micronucleus assay is not as time consuming as chromosome aberration studies, and will therefore be a good, but not so specific, supplement to the chromosome aberration test.

Changes in the ploidy of the cell genome can be measured through flow cytometry. This method is less sensitive than chromosome aberration studies, and less information about genotoxicity will be gained if the method is used alone. Due to the large number of cells possible to investigate in short time, it can be valuable as a supporting method for cytogenetic techniques.

Population dynamic investigations can give good information about reproduction and mortality. Population ecology studies in general are often performed over many years, providing a good basis for recording population changes with natural influences, and the influences of human activity like environmental pollution. In the field of pollution ecology genotoxic effects in cells or on the DNA molecule are coupled with population effects on reproduction/mortality.

Interactions of exposure to a mixture of substances has been studied experimentally, and this has led to the discovery of an array of interactions. Experimental coexposure of some metals and radioactivity showed dramatically stronger genotoxic effects than the theoretical sum of the two exposures could have predicted separately. This kind of interaction is known as a synergistic effect, and the effects of such exposures have not been studied in wildlife.

The DNA repair mechanisms are important factors in evolution, and in the capability of the cell to withstand mutagenic exposure. A repair system will never be 100% effective, this would increase the energy costs of the cell to an infinite level. The risk of

misrepair and overlooking of damage is therefore always present, and increasing with increasing mutagenic exposure.

Measuring levels of pollution will not answer the question about damage in general, and especially not for genotoxic effects. In nature, the exposure is often a complex mixture, and the effects of this is impossible to predict from laboratory experiments or theoretical knowledge alone.

10 Referanser

- Alberts, B., Bay, D., Lewis, W.I., Raff, M., Roberts, K. & Watson, J., red. 1989. The molecular genetics of cancer. - I: Molecular biology of the cell. 2nd. Ed. Garland Publishing Company Inc. New York s.1203-1216.
- Aldous, P. 1990. Leukaemia cases linked to fathers' radiation dose. - *Nature* 343: 679.
- Anderson, D., Jenkinson, P.C., Dewdney, R.S., Francis, A.J., Godbert, P. & Butterworth, K.R. 1988. Chromosome aberrations, mitogen-induced clastogenesis and proliferative rate index in peripheral lymphocytes from 106 control individuals of the U.K. population. - *Mutation Research*, 204:407-420.
- Ames, B.N., Mc Cann, J. & Yamasaki, E. 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. - *Mutation Research* 31:347-364.
- Amin-Zaki, L., Elhassani, S., Majeed, M.A., Clarkson, T.W., Doherty, R.A. & Greenwood M. 1974. Intra-uterine Methylmercury poisoning in Iraq. - *Pediatrics* 54:5: 587-595.
- Andrews, R.C.R. 1990. Unification of the findings in schizophrenia by reference to the effects of gestational zinc deficiency. - *Medical Hypotheses* 31:141-153.
- Babich, H. & Stotsky, G. 1982. Toxicity of nickel to microorganisms in soil: influence of some physiochemical characteristics. - *Environmental Pollution (Ser A)* 29:303-315.
- Babich, H., Devanas, M.A. & Stotsky, G. 1985. The mediation of mutagenicity and clastogenicity of heavy metals by physicochemical factors. - *Environmental Research* 37:253-286.
- Babich, H., Goldstein, S.H. & Borenfreund, E. 1990. In-vitro toxicity and genotoxicity of organomercurials to cells in culture. - *Toxicology Letters* 50, 2-3:143-150.
- Baker, R.J., Qumsiyeh, M.B. & Hood, C. 1987. Role of chromosomal banding patterns in understanding mammalian evolution. - I: Genoways, H.H., red. *Current Mammalogy* vol.1. Plenum Press New York s.67-89.
- Barnaby, F. 1986. Chernobyl: The consequences in Europe. - *Ambio*, 15:6.
- Barton, J.C., Conrad, M.E., Harrison, L. & Nuby, S. 1978. Effects of Calcium on the absorption and retention of Lead. - *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 91:366-376.
- Bauchinger, M., Schmid, E., Streng, S. & Dresp, J. 1983. Quantitative analysis of the chromosome damage at first division of human lymphocytes after 60-Co γ -irradiation. - *Radiation Environmental Biophysics* 22:225-229.
- Baumgartner, W.A. 1984. Antioxidants, cancer and the immune response. - I: Karasch, N., red. *Trace metals in Health and Disease*. Raven Press s.287-305.

- Bellinger, D., Leviton, A., Rabinowitz, M., Allred, E., Needleman, H. & Schoenbaum, S. 1991. Weight gain and maturity in fetuses exposed to low levels of lead. - *Environmental Research* 54:151-158.
- Bender, M.A., Awa, A.A., Brooks, A.L., Evans, H.J., Groer, P.G., Gayle Littlefield, L., Pereira, C., Julian Preston, R. & Wachholz B.W. 1988a. Current status of cytogenetic procedures to detect and quantify previous exposures to radiation. - *Mutation Research*, 196:103-159.
- Bender, M.A., Preston, R.J., Leonard, R.C., Pyatt, B.E., Gooch, P.C. & Shelby, M.D. 1988b. Chromosomal aberration and sister-chromatid exchange frequencies in peripheral blood lymphocytes of a large human population sample. - *Mutation Research*, 204:421-433.
- Benning, V.M., Maratrat, M.B., Fournier, E.C., Melcion, C.P. & Cordier, A.C. 1991. Flow cytometry detection of erythropoietic cytotoxicity in mouse bone marrow. - *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 39:1:15-21.
- Berlin, M. 1986. Mercury. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F., Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 387-445.
- Bertell, R. 1977. X-ray exposure and premature aging. - *Journal of Surgical Oncology* 9:379-391.
- Bianchi, M., Bianchi, N.O., Bewwen, J.G., Buckton, K.E., Fabry, L., Fischer, P., Gooch, P.C., Kucerova, M., Leonard, A., Mukherjee, R.N., Mukherjee, U., Nakai, S., Natarajan, A.T., Obe, G., Palitti, F., Pohl-Ruling, J., Schwarzacher, H.G., Scott, D., Sharma, T., Takashi, E., Tanzarella, C. & Van Buul, P.P.W. 1982. Evaluation of radiation-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes in vitro. Result of an IAEA-coordinated programme. - *Mutation Research*, 96:233-242.
- Bigatti, P., Lamberti, L., Ardito, G., Armerillino, F. & Malanetto, C. 1985. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in occupationally exposed workers. - *La Medicina del Lavoro*, 76:4:334-339.
- Bodmer, W.F. 1986. Inherited susceptibility to cancer. - I: Franks, L.M., Tiech, N., red. *Introduction to cellular and molecular biology of cancer*. Oxford University Press, Oxford s. 93-110.
- Borella, P. & Giardino, A. 1991. Lead and cadmium at very low doses affect *in vitro* immune response of human lymphocytes. - *Environmental Research* 55:165-177.
- Borges, K.M., Boswell, J.S., Lieboss, R.H. & Wetterhahn, K.E. 1991. Activation of chromium(VI) by thiol results in chromium(V) formation, chromium binding to DNA and altered DNA conformation. - *Carcinogenesis* 12:4:551-561.
- Boué, J., Boué, A. & Lazar, P. 1975. Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. - *Teratology* 12:11-26.
- Bremner, I. 1978. Cadmium toxicity. - *World review of Nutrition and Diet* 32:165-197.
- Brent, R.L. 1977. Radiations and other Physical agents. - I: Wilson, J.G., Fraser, F.C., red. *Handbook of teratology*. v. 1. General principles and etiology. Plenum Press, New York s. 153-223.
- Brøgger, A. 1974. Different patterns of chromosome exchanges induced by methyl-methanesulphonate and mitomycin in human cells. - *Hereditas* 77:205-208.
- Brøgger, A. 1982. Application of SCE to public health. - *Sister Chromatid exchanges* 655-673.
- Brøgger, A. & van der Hagen, B. 1983. Chromosome dosimetry in a lethal gamma radiation accident. - *Nordic Environmental Mutagen Society Symposium on Factors Affecting Mutagenicity and Evaluation of Mutagenicity Data*. Stockholm, Sweden 1983.
- Buchet, J.P. & Lauwreys, R. 1981. Transfer of lead to the offspring during pregnancy and lactation in rats. - *International Conference of Heavy Metals in the Environment 1981*. Center for Health Sciences, Wisconsin USA. s.447-449.
- Buell, G. 1975. Some biochemical aspects of Cadmium toxicology. - *Journal of Occupational Medicine* 17:3:189-195.
- Cairns, J. 1975. Mutation selection, and the natural history of cancer. - *Nature* 255:197-200.
- Chatchin, V.P. 1989. Features of harmful effects caused by air pollution on human and animal in cold. - I: Låg, J., red. *Excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions*. Det Norske Videnskapsakademi. Engers Boktrykkeri A/S, Otta. s. 82-89.
- Cherian, M.G. & Nordberg, M. 1983. Cellular adaptation in metal toxicology and metallothionein. - *Toxicology* 28:1-15.
- Clark, D.R. 1987. Selenium accumulation in mammals exposed to contaminated California irrigation drainwater. - *The Science of the Total Environment* 66:147-168.
- Cowgill, U.M., States, S.J. & Marburger, J.E. 1980. Smelter smoke syndrome in farm animals and manganese deficiency in Northern Oklahoma, USA. - *Environmental Pollution (Series A)* 22:259-272.
- Degraeve, N. 1981. Carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects of cadmium. - *Mutation Research* 86:115-135.
- Deknudt, G.H., Manuel, Y. & Gerber, G.B. 1977. Chromosomal aberrations in workers professionally exposed to Lead. - *Journal of Toxicology and Environmental Health* 3:885-891.
- Deknudt, G.H. & Deminiatti, M. 1978. Chromosome studies in human lymphocytes after *in vitro* exposure to metal salts. - *Toxicology* 10:67-75.
- Depledge, M.H. 1990. New approaches in ecotoxicology: can interindividual physiological variability be used as a tool to investigate pollution effects? - *Ambio* 19:5:251-252.

- Doyle, J.J. & Spaulding, J.E. 1978. Toxic and essential elements in meat - a review. - *Journal of Animal Sciences* 47:2:398-419.
- Eichorn, G.L. 1979. Ageing, genetics, and the environment: potential of errors introduced into genetic information transfer by metal ions. - *Mechanisms of Ageing and Development* 9:291-301.
- Eisenbud, M. 1987. - Environmental radioactivity. Academic Press inc. 3.Utg. USA.
- Elhassani, S.B. 1983. The many faces of methylmercury poisoning. - *Journal of Toxicology: Clinical toxicology* :19:8:875-906.
- Elinder, C-G. 1986. Iron. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New york-Oxford. s. 276-297.
- Elinder, C-G., Friberg, L. 1986. Cobolt. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New york-Oxford. s. 211-232.
- Elinder, C-G., Friberg, L. 1986. Antimon. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New york-Oxford. s. 26-42.
- Enterline, P.E. Respiratory cancer among chromate workers. - *Journal of Occupational Medicine* 16:8:523-526.
- Espelien, I.S. 1991. Kromosomaberrasjoner hos norsk villrein etter Tsjernobylulykken. - Hovedfagsoppgave UNIT-AVH Bot. inst.
- Espelien, I.S. 1992. Clastogenic and mutagenic effects of heavy metals and radioactivity in wildlife. - I: Kismul, V., Jerre, J. & Løbersli, E., red. *Effects of air pollution on terrestrial ecosystems in the border area between Russia and Norway*. Proceedings from 1st symposium, Svanvik, Norway 18.-20. March 1992. s. 113-122.
- Espelien, I.S. & Krøkje, Å. 1992. DNA-addukter. ³²P-postlabeling metoden for påvisning av DNA-addukter. - Statoil Rapport 92003.
- Espelien, I.S., Strand, O. & Skogland, T. 1993. Effects of low-dose radiation in wildlife: Chromosome aberrations (CA) and population effects in Norwegian wild reindeer following the Chernobyl accident. Abstract. - Proceedings of 6th ICEM conference Melbourne, Australia feb. 1993.
- Evans, J.H. 1976. Cytological methods for detecting Chemical mutagens. - I: Hollaender, A. red. *Chemical Mutagenes* Plenum press New York and London s. 1-29.
- Evans, J.H. 1985. The role of human cytogenetics in studys of mutagenesis and carcinogenesis. - Fourth International Conference on Environmental Mutagens Stockholm 24-28. Juni 1985.
- Evans, J.H. 1990. Leukemia and radiation. - *Nature* 345:16-17.
- Exon, J.H., Koller, L.D. & Elliot, S.C. 1976. Effect of dietary Selenium on tumor induction by an oncogenic virus. - *Clinical Toxicology* 9:2:273-279.
- Fantes, J.A., Green, D.K., Elder, J.K., Malloy, P. & Evans, H.J. 1983. Detecting radiation damage to human chromosomes by flow cytometri. - *Mutation Research* 119:161-168.
- Farmer, B.P., Black, J.J. & Maccubbin, A. 1987. ³²P-Postlabeling analysis of aromatic DNA adducts in fish from polluted areas. - *Cancer Research* 47:6543-6548.
- Farmer, P.B., Neuman, H.G. & Henschler, D. 1987. Estimation of exposure of man to substances reacting covalently with macromolecules. - *Archives of Toxicology* 60:251-260.
- FDA. 1966. - FDA (Federal Drug Administration) Guidelines for reproduction studies of drugs. USA.
- Fenech, M. & Morley, A. 1985. Measurement of micronuclei in lymphocytes. - *Mutation Research* 147:29-36.
- Ferm, V.G. & Carpenter, S.J. 1968. The relationship of Cadmium and Zink in experimental mammalian teratogenesis. - *Laboratory Investigation* 18:4:429-432.
- Fimreite, N. 1971. Effects of dietary methylmercury on ringnecked pheasants. - *Canadian Wildlife Service Annual Paper* 9:1-28.
- Fishbein, L. 1976. Atmospheric mutagens. - I: Hollaender, A., red. *Chemical mutagens*. Vol.4 s. 219-319. Plenum press - New York - London.
- Fiskesjø, G. 1988. The Allium test - an alternative in environmental studies; the relative toxicity of metal ions. - *Mutation Research* 197:243-260.
- Flic, D.F., Kraybill, H.F., Dimitroff, J.M. 1971. Toxic effects of Cadmium: A review. - *Environmental Research* 4: 71-85.
- Flohe, L., Günzler, W.A. & Loschen, G. 1984. The Glutathion peroxidase reaction: a key to understand the selenium requirement of mammals. - I: Karasch, N., red. *Trace metals in Health and Disease*. Raven Press 1979 s. 263-286.
- Fontana, F. & Rubini, M. 1990. Chromosomal evolution in Cervidae. - *Bio Systems* 24:157-174.
- Forni, A., Pacifico, E. & Vigliani, E. 1971. Chromosome studies in workers exposed to Benzene or Toluene or both. - *Archives of Environmental Health* 23:385.
- Frank, A. 1982. Tungmetaller i vilt. - *Viltnytt* 15:14-21.
- Friberg, L. 1986. Cadmium. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New york-Oxford. s. 130-184.
- Friberg, L. & Nordberg, G. 1986. Introduction. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F., Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New york-Oxford. s. 1-13.
- Frost, D. 1972. The two faces of Selenium - can Selenophobia be cured? - *Critical Reviews in toxicology* Oct.1972:467-514.

- Frøslie, A., Norheim, G., Rambæk, J.P. & Steinnes, E. 1984. Levels of trace elements in liver from Norwegian moose, reindeer and red deer in relation to atmospheric deposition. - *Acta Veterinaria Scandinavica* 25:333-345.
- Frøslie, A., Haugen, A., Holt, G. & Norheim, G. 1986. Levels of cadmium in liver and kidneys from Norwegian cervides. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 37:453-460.
- Frøslie, A. 1990a. Trace element status in relation to aspects of animal health in northern regions of Norway. - I: Låg, J., red. Excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions. Det Norske Videnskapsakademi. Engers Boktrykkeri A/S, Otta. s. 141-148.
- Frøslie, A. 1990b. Trace elements in reindeer and sheep from Sør-Varanger, Finnmark. A preliminary study. - I: Låg, J., red. Excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions. Det Norske Videnskapsakademi. Engers Boktrykkeri A/S, Otta. s. 220-221.
- Funes-Craviato, F., Lamert, B., Lindsten, J., Ehrenberg, L., Natarajan, A.T. & Osterman-Golkar S. 1975. Chromosome aberrations of workers exposed to Vinylchloride. - *Lancet* 1:459.
- Gabe, M. 1976. The methods of general cytology. - I: Histological techniques. Masson/Springer Verlag, New York-Heidelberg-Berlin 1976 s. 681-696.
- Ganrot, P.O. 1986. Metabolism and possible health effects of Aluminium. - *Environmental Health perspectives* 65:363-441.
- Gardner, M.J., Hall, A.J., Snee, M.P., Downes, S., Powell, C.A. & Terrel, J.D. 1990. Methods and basic data of case-control study of leukaemia and lymphoma among young people near Sellafield nuclear plant in West Cumbria. - *British Medicine Journal* 300:429-434.
- Gebhart, E. 1984. Mutagenität, Karzinogenität, Teratogenität. - I: Merian, E., red. Metalle in der Umwelt. Verlag Chemie 1984 s. 237-247.
- Georges, L.S., Dallas, C.E., Brisbin, I.L.jr. & Evans, D.L. 1991. Flow cytometric DNA analysis of ducks accumulating 137-Cs on a reactor reservoir. - *Ecotoxicology and Environmental Safety* 21: 337-347.
- Gillies McKenna, W., Iliakis, G., Weiss, M.C., Bernard E.J. & Muschel, R.J. 1991. Increased G-2 delay in radiation-resistant cells obtained by transformation of primary rat embryo cells with the oncogenes H-ras and v-myc. - *Radiation Research* 125:283-287.
- Glattre, E., Thomassen, Y., Thoresen, S.Ø., Haldorsen, T., Lund-Larsen, P.G., Theodorsen, L. & Aaseth, J. 1989. Prediagnostic serum selenium in a case-control study of thyroid cancer. - *International Journal of Epidemiology* 18:45-9.
- Goodenough, U. 1984. - Genetics. Holt-Saunders Japan. s. 150.
- Goyer, R.A. 1991. - Toxic effects of metals. - I: Amdur, M.O., Doull, J. & Klaassen, C., red. - Casarett and Duoll's Toxicology. Macmillian publishing company New York-Toronto-London. s. 582-635.
- Gripenberg, U. 1965. Chromosome studies in some virus infections. - *Hereditas* 54:1-18.
- Gripenberg, U. 1984. Characterization of the karyotype of the reindeer (*Rangifer tarandus*); The distribution of the heterochromatin in the reindeer and the scandinavian moose (*Alces alces*). - 6th European Colloquium of Cytogenetics on Domestic Animal s. 68-79.
- Gupta, R. 1984. Nonrandom binding of the carcinogen N-hydroxy-2-acetylaminofluorene to repetitive sequences of rat liver *in vivo*. - *Proceedings of National Academy of Science USA* 81:6943-6947.
- Haddow, A., Roe, F.J.C. & Mitchley, B.C.V. 1964. Induction of sarcomata in rabbits by intramuscular injection of iron-dextran (Imferon). - *British Medical Journal* 1:1593-1594.
- Hagen et al. 1990.
- Hammond, C.R. 1980. The elements. - I: East, R.C., red. Handbook of chemistry and physics. Chemical Rubber Publishing Company, USA.
- Harada, Y. 1968. Congenital (or fetal) Minimata Disease. - I: Minimata disease. Study Group of Minimata Disease, Kumamoto University, Japan. s. 93-117.
- Harley, C.B., Menon, C.R., Rachubinski, R.A. & Nieboer, E. 1989. Metallothionein mRNA and protein induction by cadmium in peripheral blood leucocytes. - *Biochemical Journal* 262:873-879.
- Harley, N.H. 1991. -Toxic effects of radiation and radioactive materials. -I: Amdur, M.O., Doull, J., Klaassen, C. (ed.) - Casarett and Duoll's Toxicology. Macmillian publishing company New York-Toronto-London. s. 723-752.
- Hurley, L.S., Gowan, J. & Swenerton, H. 1971. Teratogenic effects of short term and transitory zinc deficiency in rats. - *Teratology* 4:199-204.
- Heim, S. & Mitelmann, F. Primary chromosome abnormalities in human neoplasia. - *Advances in Cancer Research* 52:1-43.
- Holt, G., Frøslie, A. & Norheim, G. 1978. Blyforgiftning hos norske svømmefugler. - *Nordisk Veterinærmedisin* 30:380-386.
- Hurley, L.S., Gowan, J. & Swenerton, G. 1971. Teratogenic effects of short and long term and transitory deficiency in rats. - *Teratology* 4:199-204.
- Huttonen, S. 1984. Interaction of disease and other stress factors with atmospheric pollution. - I: Treshow, M., red. Air Pollution and Plant Life Wiley & sons Ltd s. 321-356.
- Hsu, T.C. & Pomerat, C.M. 1952. Mammalian chromosomes *in vitro*. - *Journal of Heredity* 44:23-29.

- Høgberg, J. & Aleksander, J. 1986. Selenium. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 482-520.
- IARC. 1987. - Monograph on the evaluations of the carcinogenicity: An update of IARC monographs. Vol 1-42. WHO-IARC Lyon, France 1987.
- Jennette, K.W. 1981. The role of metals in carcinogenesis: Biochemistry and metabolism. - Environmental Health Perspectives 40:233-252.
- Jensen, A.A., Tüchsen, F. 1990. Cobalt exposure and cancer risk. - Critical Reviews in Toxicology 20:6:427-437.
- Jugo, S. 1977. Metabolism of toxic metals in growing organisms: A review. - Environmental Research 13:36-46.
- Kagi, J.H.R. & Vallee, B.L. 1960. Methallothionein: a cadmium and zinc-binding protein from equine renal cortex. - Journal of Biochemistry 235:3460-3465.
- Kagi, J.H.R. & Vallee, B.L. 1961. Methallothionein: a cadmium and zinc-binding protein from equine renal cortex II. Physicochemical properties. - Journal of Biochemistry 236:2435-2442.
- Khalil, A.M. & Maslat, A.O. 1990. Chromosome aberrations, sister-chromatid exchanges and cell cycle kinetics in human peripheral blood lymphocytes exposed to organoselenium in vitro. - Mutation Research 232:227-232.
- Kendall, R.J. & Scanlon P.F. 1981. Effects of chronic lead ingestion on reproductive characteristics of ringed turtle doves *streptopelia risoria* and on tissue lead concentrations of adults and their progeny. -Environmental Pollution (Series A) 26:203-213.
- Kieffer, F. 1984. Metalle als lebensnotwendige Spurelemente für Pflanzen, Tiere und Menschen. - I: Merian, E., red. Metalle in der Umwelt. Verlag Chemie 1984 s. 117-123.
- Kilian, D.J. & Picciano, D. 1976. Cytogenetic surveillance of industrial populations. - I:Hollaender, A. red. Chemical mutagens. Vol.4 s. 321-339. Plenum press -New York -London.
- Kismul, V., Jerre, J. & Løbersli, E. 1992. Effects of air pollution on terrestrial ecosystems in the border area between Russia and Norway. - Proceedings from 1st symposium, Svanvik, Norway 18.-20. March 1992.
- Klaassen, C.D. & Eaton, D.L. 1991. Principles of Toxicology. -I: Amdur, M.O., Doull, J. & Klaassen, C., red. - Casarett and Duoll's Toxicology. Macmillian publishing company New York-Toronto-London s. 201-225.
- Koller 1979.
- Kurelec, B., Garg, A., Krca, S. & Gupta, R. 1989. DNA adducts as biomarkers in genotoxic risk assessment in the aquatic environment. - Marine Environmental Research 28:317-321.
- Kurelec, B., Krca, S., Garg, A. & Gupta, R. 1991. The potential of carp to bioactivate benzo(a)pyrene to metabolites that bind to DNA. - Cancer Letters 57:255-260.
- Kutsuna, M. 1968. Historical perspective of the study on Minimata disease. - I: Minimata disease. Study group of minimata disease, Kumamoto University, Japan. s. 1-4.
- Kålås, A., Fiske, P. & Pedersen, H.C. 1992. Terrestrisk naturovervåking. Landsomfattende kartlegging av miljøgifter i dyr. - NINA Oppdragsmelding 37:1-15.
- Lagerkvist, B. & Nordberg, G. 1986. Vanadium. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 638-663.
- Langgård, S. & Norseth, T. 1986. Chromium. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 185-210.
- Lamb, T., Bickham, J.W., Gibbons, J.W., Smolen, M.J. & MCDowell, S. 1991. Genetic damage in a population of Slider Turtles (*Trachemys scripta*) inhabiting a radioactive reservoir. -Archives of Environmental Contamination and Toxicology 20:138-142.
- Lindholm, C., Norrppa, H., Hayashi, M. & Sorsa, M. 1991. Induction of micronuclei and anaphase aberrations by cytochalasin B in human lymphocyte cultures. - Mutation Research 260:369-375.
- Løbersli, E. M. Soil acidification and metal uptake in plants. -Dr. scient. thesis Bot. inst. UNIT-AVH 1991.
- Maddox, J. 1990. Sellafield makes news again. - Nature 343:690.
- Malling, H.V. & Wassom, J.S. 1977. Action of mutagenic agents. -I: Wilson, J.G. & Fraser, F.C., red. Handbook of teratology. v. 1. General principles and etiology. Plenum Press, New York s. 99-152.
- Manson, J.M. 1986. Teratogens. - I: Klaassen, C.D., Amdur, M.O. & Doull, J., red. - Casarett and Duoll's Toxicology. Macmillian publishing company New York-Toronto-London. s. 195-220.
- Matsson, P., Albanus, L. & Frank, A. 1981. Kadmium och vissa andra metaller i lever och njure från älg. - Vår Føda 33:335-345.
- McLachlin, J.R., Goyer, R.A. & Cherian, M.G. 1980. Formation of lead-induced inclusion-bodies in primary rat kidney epithelial cell cultures: Effect of actinomycin D and Cyclohexamide. -Toxicology and Applied Pharmacology 56:418-431.
- Moiseenko, T.I. & Kudratsjeva, L.P. 1989. The regularities of the heavy metals accumulation in organism systems of fresh wa-

- ter fishes and pathological processes. - I: Låg, J., red. Excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions. Det Norske Videnskapsakademi. Engers Boktrykkeri A/S, Otta. s. 72-81.
- Mukherjee, A., Haimanti, D., Sharma, A. 1990. Interaction between essential Elements -Zinc and Iron and Metal Pollutants -Cadmium and lead on cell division and chromosome aberrations in *vallisneria spiralis* L. - *Cytologia* 55: 405-410.
- Mukherjee, A.B. 1991. Industrial emissions of mercury in Finland between 1967 and 1987. - *Water, Air, and Soil Pollution* 56:35-49.
- Müntzig, A. 1977. Eksperimentell framkallade mutationer. - I: Müntzig, A., red. Ärtlighetsforskning. s.188-196. LTs Forlag Stockholm 1977.
- Murakami, U. 1972. The effect of organic Mercury on intrauterine life. - *Advances in Experimental Medicine and Biology* 27:301-336.
- Muro, L.A. & Goyer, R.A. 1969. Chromosome damage in experimental lead poisoning. - *Archives of Pathology* 87:660-663.
- NGU 1991. Bergrunnskart over Norge. Selen. - NGU berggrunnskart.
- Nordberg, G.F. & Andersen, O. 1981. Metal interaction in carcinogenesis: enhancement, inhibition. - *Environmental Health Perspectives* 40:65-81.
- Norrppa, H., Hayashi, M., Maki-Paakkanen, J. & Sorsa, M. 1990. The micronucleus assay in lymphocytes. - *Mutation and Environment B*:207-216.
- Norseth, T. 1986. Nickel. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 462-481.
- Nriagu, J.O. 1988. A silent epidemic of environmental poisoning? - *Environmental Pollution* 50:139-161.
- Nriagu, J.O. & Pacyna, J.M. 1988. Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. - *Nature* 333:134-139.
- Nybø, S. 1991. Terrestrisk Naturovervåking: Tungmetaller og aluminium i pattedyr og fugl. - DN-Notat 1991-9.
- Nyholm, E. 1986. Metaller i daggdjur och fåglar. - SNV PM-Rapport.
- Ohlendorf, H.M., Hoffman, D.J., Saiki, M.K. & Aldrich, T.W. 1986a. Embryonic mortality and abnormalities of aquatic birds: apparent impacts of selenium from irrigation drainwater. - *Science of the Total Environment* 52:49-63.
- Ohlendorf, H.M., Hothem, R.L., Aldrich, T.W., Bunck, C.M. & Moore, J.F. 1986b. Relationships between selenium concentrations and avian reproduction. - *Transactions of North American Wildlife and Nature Resource Conference* 51:330-342.
- Otto, F.J. & Oldiges, H. 1980. Flow cytogenetic studies in chromosomes and whole cells for the detection of clastogenic effects. - *Cytometri* 1:1:13-17.
- Ozoh, P.T.E. 1980. Effects of reversible incubations of zebrafish eggs in copper and lead ions with or without shell membranes. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 24:270-275.
- Pacyna, J.M. & Münch, J. 1991. Anthropogenic mercury emission in Europe. - *Water, Air, and Soil Pollution* 56:51-56.
- Park, J-W., Cundy, K. & Ames, B. 1989. Detection of DNA adducts by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. - *Carcinogenesis* 10:5:827-832.
- Peavy, D.L. & Faichild, E.J. II. Induction of metallothionein synthesis in human peripheral blood leucocytes. - *Environmental Research* 42:377-385.
- Pedersen, H.C. & Nybø, S. 1990. Effekter av langtransportert forurensing på terrestriske dyr i Norge. En statusrapport med vekt på SO₂, NO_x og tungmetaller. - NINA Utredning 5:1-54.
- Pedersen, H.C., Nygård, T., Myklebust, I. & Sæther, M. 1991. Metallbelastninger i lirype. - NINA Oppdragsmelding 71:1-18.
- Pershagen, G. & Vahter, M. 1991. Oorganisk arsenik. - Nordiska gruppen för Gränsvärdesdokumentation, Nordisk Ministerråd 1991:9:94.
- Poirier, M., Weston, A., Gupta, -Burt, S., Reed, E. 1990. Measurement of DNA adducts by immunoassays. - I: Sutherland M.M., Woodhead, A.D. red. DNA Damage and repair in human tissues. Plenum Press New York-London s. 1-11.
- Putrament, A., Baranowska, H., Ejchart, A. & Prazmo, W. 1975. Manganese mutagenesis in yeast. A practical application of manganese for the induction of mitochondrial antibiotic-resistant mutations. - *Journal of General Microbiology* 90:265-270.
- Randerath, K., Reddy, M.V. & Gupta, R.C. 1981. ³²P-Labeling test for DNA damage. - *Proceedings of National Academy of Science, USA* 78:10:6126-6129.
- Randerath, K. & Randerath, E. 1990. Detection of human DNA adducts by ³²P postlabeling. - I: Sutherland, B.M. & Woodhead, A.D., red. DNA damage and repair in human tissues. Plenum press, New York 1990.
- Reddy, T.P. & Vaidyanath, K. 1978. Synergistic interaction of gamma rays and some metallic salts in the induction of chlorophyll mutations in rice. - *Mutation Research* 52:361-365.
- Reddy, M.V., Gupta, R.C., Randerath, E. & Randerath, K. 1984. P-32 postlabeling test for covalent DNA binding of chemicals *in vivo*: application to a variety of aromatic carcinogens and methylating agents. - *Carcinogenesis* 5:2:231-243.

- Reeves, A.L. 1986. Beryllium. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. Handbook on the Toxicology of Metals. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 95-116.
- Richardson, M.E., Fox, M.R.S. & Fry B.E.jr. 1974. Pathological changes produced in Japanese Quail by ingestion of Cadmium. - *Journal of Nutrition* 104:323-338.
- Ringstad, J. 1990. Selenium and human health in northern Norway. - I: Låg, J., red. Excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions. Det Norske Videnskapsakademi. Engers Boktrykkeri A/S, Otta. s. 158-169.
- Roberts, L. 1990. British radiation study throws experts into tizzy. - *Science* 248:24-25.
- Røed, K. 1992. Genetiske skader hos rein etter Tsjernobylulykken. - I: Garmo, T.H. & Gunnerød, T.B., red. Radioaktivt nedfall fra Tsjernobylulykken. NLVF Ås 1992. s. 103-112.
- Sahu, R.K., Katsifis, S.P., Kinney, P.L. & Christie, N.T. 1989. Effects of nickel sulfate, lead sulfate, and sodium arsenite alone or in combination with UV light on sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. - *Journal of Molecular Toxicology* 2:129-136.
- Scheuhammer, A.M. 1991a. Acidification-related changes in the biogeochemistry and ecotoxicology of mercury, cadmium, lead and aluminium: an Overview. - *Environmental pollution* 71:87-90.
- Scheuhammer, A.M. 1991b. Effects of acidification on the availability of toxic metals and calcium to wild birds and mammals. - *Environmental pollution* 71:329-375.
- Schmid, W. 1976. The micronucleus test for cytogenetic analysis. - I: Hollaender, A., red. Chemical mutagens. Vol.4 s. 31-53. Plenum press - New York - London.
- Schrauzer, G.N. 1979. Klaus Schwarz 1914-1978 Commemoration of a leader in trace element research. - I: Karasch, N., red. Trace metals in Health and Disease. Raven Press 1979 s. 251-262.
- Schroeder, H.A., Frost, D.V. & Balassa, J.J., 1970. Essential trace elements in man: Selenium. - *Journal of Chronic Diseases* 23:227-243.
- SFT Rapport 375/89. Overvåking av langtransportert forurenset luft og sur nedbør. - SFT TA-676, 276 s.
- SFT/AT. 1991. Statens forurensingstilsyns / Arbeidstilsynets Faggruppe for identifisering av kreftfremkallende stoffer. - Kriteriedokument for krom og kromforbindelser. 19.05.91.KRA.
- Shapiro, H. M. 1991. Flow cytometri: Past, presence and future. - I: Coon, J. S., Weinstein, R. S. (red.) Diagnostic flow cytometry. Williams and Wilkins, Baltimore-Hong Kong-London-Sydney s.1-15.
- Sharma, T. & Das, B.C. 1983. Influence of age on the frequency of sister-chromatid exchanges and x-ray induced chromosome aberrations in muntjac. - *Mutation Research*, 109:53-63.
- Sharma, T. & Das, B.C. 1986. Higher incidence of spontaneous sister-chromatid exchanges (SCEs) and x-ray-induced chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes during pregnancy. - *Mutation Research* 174:27-33.
- Sirover, M.A. & Loeb, L.A. 1976. Infidelity of DNA synthesis in vitro: Screening for potential mutagens or carcinogens. - *Science* 194:1434-1436.
- Sivertsen, B. 1990. Luftkvaliteten i grenseområdene mellom Norge og Sovjetunionen status 1990. - *Nilu F:13/90*.
- Sivertsen, T. 1992. - Opptak av tungmetaller i dyr i sør-Varanger. DN 1992.
- Skerfving, S. 1974. Methylmercury exposure, mercury levels in blood and hair, and health status in Swedes consuming contaminated fish. - *Toxicology* 2:3-23.
- Skogland, T. 1991. Radiocesium concentration in wild reindeer at Dovrefjell. - *Rangifer* 7:42-45.
- Skogland, T. & Strand, O., Espelien, I.S. Den biologiske betydning av radiocesium i villrein 1990. - I: Gaare, E., Jonsson, B. & Skogland, T., red. Sluttrapport fra NINA's radioøkologi-program 1986-1990. s.64-70.
- Skogland, T., Strand, O., Espelien, I.S., Mathiesen, S. & Baskin, L. 1992. Pollution by heavy metals and radioactivity of reindeer; preliminary results. - *Progresjonsrapport, NINA*.
- Snyder, R.D. & Lachman, P.J. 1989. Thiol involvement in the inhibition of DNA repair by metals in mammalian cells. - *Journal of Molecular Toxicology* 2:117-128.
- Sunde, h.G., Haldorsen, t. 1990. Cancer in Pasvik. Pollution from Nikeli. A connection? - I: Låg, J. (red.) excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions. Det Norske Vitenskapsakademi. engers boktrykkeri A/s, Otta. s 190-197.
- Steinnes, E., Frantzen, F., Johansen, O., Rambæk, J.P. & Hanssen, J.E. 1988. Atmosfærisk nedfall av tungmetaller i Norge. - SFT Rapport 334/88-TA-643, 33 s.
- Steinnes, E. 1989. Atmospheric fallout of heavy metals in northern Norway. - I: Låg, J., red. Excess and deficiency of trace elements in relation to human and animal health in arctic and subarctic regions. Det Norske Videnskapsakademi. Engers Boktrykkeri A/S, Otta. s. 33-39.
- Spyker, J.M. 1972. Subtle consequences of Methylmercury exposure: Behavioral deviations in offspring of treated mothers. - *Science* 177:621-623.
- Stoeckle, J.D., Mancuso, T. 1974. Beryllium disease. - *Science* 183:449.
- Su, M-Q. & Okita, G.T. 1976. Embryocidal and teratogenic ef-

- fects of methylmercury in mice. - *Toxicology and Applied Pharmacology* 38:207-216.
- Sumari, P., Partanen, T., Hietala, S. & Heinonen, O.P. Blood and hair mercury content in fish consumers. 1972. A preliminary report. - *Working and Environmental health* 9:61-65.
- Takeuchi, T. 1968a. Pathology of Minimata disease. - I: Minimata disease. Study Group of Minimata Disease, Kumamoto University, Japan. s. 141-206.
- Takeuchi, T. 1968b. Pathology of Minimata disease. - I: Minimata disease. Study Group of Minimata Disease, Kumamoto University, Japan. s. 207-228.
- Tang, X-M., Chen, X-Q, Zhang, J-X. & Qiu, W-Q. 1990. Cytogenetic investigation in lymphocytes of people living in Cadmium-polluted areas. - *Mutation Research* 241:243-249.
- Thilly, W.G. & Call, K.M. 1986. Genetic toxicology. - I: Klaassen, C.D., Amdur, M.O. & Doull, J., red. - *Casarett and Duoll's Toxicology*. Macmillian publishing company New York - Toronto - London. s. 174-194.
- Tikkanen, E., Varmola, M. & Katermaa, T. 1992. - Symposium on the state of the Environment and Environmental Monitoring in Northern Fennoscandia and the Kola Peninsula. October 6-8, Rovaniemi, Finland. Arctic Centre, University of Lapland.
- Tseng, W-P. 1977. Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. - *Environmental Health Perspectives* 19:109-119.
- Tsuchiya, K. 1986. Lead. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam - New York - Oxford. s. 298-353.
- Tukomi, H. 1968. Minimata disease in human adult. - I: Minimata disease. Study group of minimata disease, Kumamoto University, Japan. s. 37-72.
- USSR SUAE, State Committee on the Utilisation of Atomic Energy. 1986. The accident at the Chernobyl nuclear power plant and its consequences. - Moscow.
- USSR Academy of Sciences. 1991. - Kola Science Center Information Bulletin.
- Viarengo, A. 1985. Biochemical effects of trace metals. - *Marine Pollution* 16:4:153-158.
- Waalkes, M.P., Rehm, S., Sass, B., Konishi, N. & Ward, J.M. 1991. Chronic carcinogenic and toxic effects of a single subcutaneous dose of Cadmium in the male Fisher rat. - *Environmental Research* 55:40-50.
- Waksvik, H. 1976. Kromosomskader i humane celler belyst ved induksjon med psoralen/UV og caffein. - Cand. real oppgave ved Universitetet i Oslo.
- Waser, J., Trueblood, K.N. & Knobler, C.M. 1982. Metallic elements and their compounds. - *Chem one McGraw - Hill International Book Company London*. s. 583-603.
- Wheeler, D. 1988. Atmospheric dispersal and deposition of radioactive material from Chernobyl. - *Atmospheric environment* 22,5:853-863.
- White, D.H. & Dieter, M.P. 1978. Effects of dietary Vanadium in mallard ducks. - *Journal of Toxicology and Environmental Health* 4:43-50.
- Wilson, J.G. 1977. Embryotoxicity of drugs in man. - I: *Handbook of teratology*. v. 1. Wilson, J.G. & Clarke Fraser, F., red. General principles and etiology. Plenum Press, New York s. 309-355.
- Wolff, S.P. 1990. Child leucemia - curies or cars? - *Nature* 346:517.
- Woolf, A., Smith, J.R. & Small, L. 1982. Metals in livers of White-tailed deer in Illinois. - *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 28:189-194.
- Wren, C. 1983. Litterature review of the occurrence and toxicity of metals in wild mammals. - *KN 107-2-4609*.
- Zook, B.C., Wilpizeski, C.R., Albert, E.N. 1979. Brain lesions in experimental methyl mercury poisoning of squirrel monkeys (*Saimiri Sciureus*). - I: Newman, red. *Animals as monitors of environmental pollutants*. National Academy of Sciences. Washington D.C. s. 151-164.
- Yamaguchi, N., Yamashima, T. & Yamashita, J. 1991. A histological and flow cytometric study of dog brain endothelial cell injuries in delayed radiation necrosis. - *Journal of Neurosurgery* 74:625-632.
- Aaseth, J. & Norseth, T. 1986. Copper. - I: Friberg, L., Nordberg, G.F. & Vouk, V.B., red. *Handbook on the Toxicology of Metals*. Elsevier 1986, Amsterdam-New York-Oxford. s. 233-254.

Naturens tålegrenser

Oversikt over utgitte rapporter

- 1 Nygård, P.H. [1989]. Forurensningers effekt på naturlig vegetasjon; en litteraturstudie. - Norsk institutt for skogforskning (NISK), Ås.
- Uten nr.
Jaworowski, Z. 1989. Pollution of the Norwegian Arctic: A review. - Norsk polarinstitutt (NP) Rapportserie nr.55. Oslo.
- 2 Henriksen, A., Lien, L. & Traaen, T.S. 1990. Tålegrenser for overflatevann. Kjemiske kriterier for tilførsler av sterke syrer. - Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapp. O-89210.
- 3 Lien, L., Henriksen, A., Raddum, G. & Fjellheim, A. 1989. Tålegrenser for overflatevann. Fisk og evertebrater. Foreløpige vurderinger og videre planer. - Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapp. O-89185.
- 4 Bølviken, B. & medarbeidere 1990. Jordforsuringsstatus og forsuringfølsomhet i naturlig jord i Norge. - Norges geologiske undersøkelse (NGU). NGU-rapport 90.156. 2 bind (Bind I: Tekst, Bind II: Vedlegg og bilag).
- 5 Pedersen, H.C. & Nybø, S. 1990. Effekter av langtransporterte forurensninger på terrestriske dyr i Norge. En statusrapport med vekt på SO_2 , NO_x og tungmetaller. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Utredning 5.
- 6 Frisvoll, A.A. 1990. Moseskader i skog i Sør-Norge. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 18.
- 7 Muniz, I.P. & Aagaard, K. 1990. Effekter av langtransportert forurensning på ferskvannsdyr i Norge; virkninger av en del sporelementer og aluminium. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Utredning 13.
- 8 Hesthagen, T., Mack Berger H. & Kvenild, L. 1992. Fiskestatus i relasjon til forsuring av innsjøer. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Forskningsrapport 32.
- 9 Pedersen, U., Walker, S.E. & Kibsgaard, A. 1990. Kart over atmosfærisk avsetning av svovel- og nitrogenforbindelser i Norge. - Norsk institutt for luftforskning (NILU) OR: 28/90.
- 10 Pedersen, U. 1990. Ozonkonsentrasjoner i Norge. - Norsk institutt for luftforskning (NILU). OR: 28/29.
- 11 Wright, R.F., Stuanes, A., Reuss, J.O. & Flaten, M.B. 1990. Critical loads for soils in Norway. Preliminary assessment based on data from 9 calibrated catchments. - Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapp. O-89153.
- 11b Reuss, J.O. 1990. Critical loads for soils in Norway. Analysis of soils data from eight Norwegian catchments. - Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapp. O-89153.
- 12 Amundsen, C.E. 1990. Bufferprosent som parameter for kartlegging av forsuringfølsomhet i naturlig jord. - Univ. i Trondheim, AVH (stensil).
- 13 Flatberg, K.I., Foss, B., Løken, A. & Saastad, S.M. 1990. Moseskader i barskog. - Direktoratet for naturforvaltning (DN), notat (under trykking).
- 14 Frisvoll, A.A. & Flatberg, K.I. 1990. Moseskader i Sør-Varanger. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 55.
- 15 Flatberg, K.I., Bakken, S., Frisvoll, A.A. & Odasz, A.M. 1991. Moser og luftforurensninger. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 69.
- 16 Mortensen, L.M. 1991. Ozonforurensning og effekter på vegetasjonen i Norge. - Norsk landbruksforsk. 5:235-264.
- 17 Wright, R.F., Stuanes, A.O. & Frogner, T. 1991. Critical Loads for Soils in Norway Nordmoen. - Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapport O-89153.
- 18 Pedersen, H.C., Nygård, T., Myklebust, I. & Sæther, M. 1991. Metallbelastninger i lirype. - Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 71.
- 19 Lien, L., Raddum, G.G. & Fjellheim, A. 1991. Tålegrenser for overflatevann evertebrater og fisk. Norsk institutt for vannforskning (NIVA) Rapport O-89185,2.

- 20 Amundsen, C.E. 1992. Sammenligning av parametre for å bestemme forsurningsfølsomhet i jord. (NGU)- rapport 91.265.
- 21 Bølviken, B., Nilsen, R., Romundstad, J. & Wolden, O. 1992. Surhet, forsurningsfølsomhet og lettløselige basekationer i naturlig jord fra Nord-Trøndelag og sammenligning med tilsvarende data for Sør Norge. NGU-rapport 91.250.
- 22 Sivertsen, T. & medarbeidere. 1992. Opptak av tungmetaller i dyr i Sør-Varanger. Direktoratet for naturforvaltning, DN-notat 1991-15. 53s.
- 23 Lien, L., Raddum, G.G. & Fjellheim, A. 1992. Critical loads for acidity to freshwater. Fish and invertebrates. Norwegian Institute for Water Research (NIVA), rapport 0-89185,3 .
- 24 Fremstad, E. 1992. Virkninger av nitrogen på heivegetasjon. En litteraturstudie. Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 124.
- 25 Fremstad, E. 1992. Heivegetasjon i Norge, utbredelseskart. Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 188.
- 26 Flatberg, K.I. & Frisvoll, A. 1992. Undersøkelser av skader hos to sigdmoser i Agder. Norsk institutt for naturforskning (NINA) Oppdragsmeld. 134.
- 27 Lindstrøm, E.A. 1992. Tålegrenser for overflatevann. Fastsittende alger. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-90137/E-90440, rapport-2.
- 28 Brettum, P. 1992. Tålegrenser for overflatevann. Plan-teplankton. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-90137/E-90440, rapport-3.
- 29 Brandrud, T.E., Mjelde, M. 1992. Tålegrenser for overflatevann. Makrovegetasjon. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-90137/E-90440, rapport-1.
- 30 Mortensen, L.M. & Nilsen, J. 1992. Effects of ozone and temperature on growth of several wild plant species. Norwegian Journal of Agricultural Sciences 6:195-204.
- 31 Pedersen, H.C., Myklebust, I., Nygård, T. & Sæther, M. 1992. Akkumulering og effekter av kadmium i li-type. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmeld.152.
- 32 Amundsen, C.E. 1992. Sammenligning av relativ forsurningsfølsomhet med tålegrenser beregnet med modeller i jord. Norges geologiske undersøkelse. NGU-rapport 92.294.
- 33 Frogner, T., Wright, R.F. Cosby, B.J., Esser, J.M., Håøya, A.-O. & Rudi, G. 1992. Map of critical loads for coniferous forest soils in Norway. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-90147.
- 34 Henriksen, A., Lien, L., Traaen, T.S. & Taubøll, S.1992. Tålegrenser for overflatevann - Kartlegging av tålegrenser og overskridelser av tålegrenser for tilførsler av sterke syrer. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-89210.
- 35 Lien, L., Henriksen, A. & Traaen, T.F. 1993. Tålegrenser for sterke syrer på overflatevann - Svalbard. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-90102.
- 36 Henriksen, A., Hesthagen, T. Berger, H.M., Kvenild, L & Taubøll, S. 1993 Tålegrenser for overflatevann - Sammenheng mellom kjemisk kriterier og fiskestatus. Norsk institutt for vannforskning (NIVA). O-92122.
- 37 Odasz, A.M., Øiesvold, S., & Vänge, V. 1993. Nitrate nutrition in *Racomitrium lanuginosum* (Hedw.) Brd., a bioindicator of nitrogen deposition in Norway (in prep).
- 38 Espelien, I.S. 1993. Genetiske effekter av tungmetaller på pattedyr. En kunnskapsoversikt. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Utredning (in prep).
- 39 Økland, J. & Økland, K.A. 1993. Database for bioindikatorer i ferskvann - et forprosjekt. Laboratorium for ferskvannsekologi og innlandsfiske (LFI), Zoologisk Museum, Oslo. Rapport nr. 144, 1993.
- 40 Aamlid, D. & Skogheim, I. 1993. Nikkel, kopper og andre metaller i multer og blåbær fra Sør-Varanger, 1992. Norsk institutt for skogforskning. Skogforsk rapport (in prep).
- 41 Kålås, J.A., Ringsby, T.H. & Lierhagen, S. 1993. Metals and radiocesium in wild animals from the Sør-Varanger area, North Norway. Norsk institutt for naturforskning (NINA), Oppdragsmelding 212.

Henvendelser vedrørende rapportene rettes til utførende institusjoner.

051

nina
utredning

ISSN 0802-3107
ISBN 82-426-0375-8

Norsk institutt for
naturforskning
Tungasletta 2
7005 Trondheim
Tel. 07 58 05 00