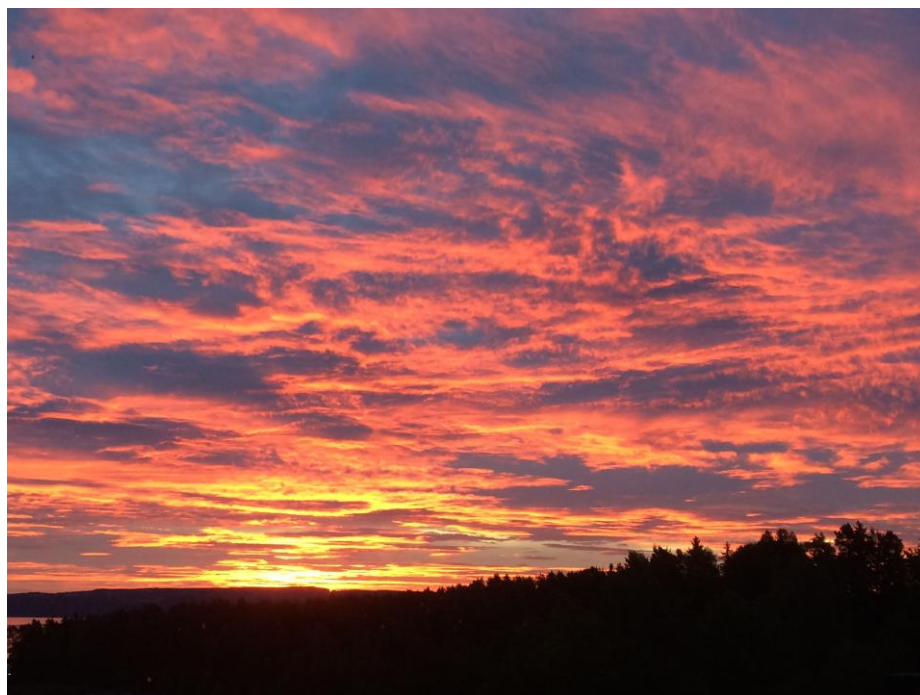


# Toksikologen



Soloppgang Foto: Mariell Negård

# Redaksjonens røst

Hei, alle sammen! Håper dere har hatt en fin og avslappende sommerferie.

Styret i toksikologiseksjonen ønsker å informere om at Jan Alexander får BCPT (basic and clinical pharmacology and toxicology) nordisk pris 2016 for sin forskning i feltet mattrygghet. Styret ønsker også å informere om fristen for å nominere artikler til prisen for årets beste publikasjon er 1 november, kom gjerne med forslag! Vintermøte 2017 holdes som før ved Radisson BLU resort Beitostølen 26-29 januar. Det skal være sesjoner om fedme, luftforurensing og kvikksølv.

I høstnummeret av Toksikologen kan vi friste med tre artikler og et intervju. Første artikkel er et kort sammendrag av artikkelen til Anita Solhaug og medforfattere som vant publikasjonsprisen, vi har også intervjuet henne i den sammenheng. De vant prisen med

artikkelen "The mycotoxin alternariol induces DNA damage and modify macrophage phenotype and inflammatory responses". Neste artikkel handler om eksposomet, "Bringing the exposome concept into life" av Lydiane Angier som holdt dette foredraget ved vintermøtet. Sist, men ikke minst, en artikkel om blyforgiftning fra batterier hos kuer av Aksel Bernhoft fra Veterinærinstituttet.

Takk til dere alle sammen!

Vennlig hilsen



Mariell Negård, redaktør

# Innholdsfortegnelse

|  |    |
|--|----|
| Intervju med Anita Solhaug .....   | 4  |
| Artikler .....   | 6  |
| Anita Solhaug: Cellulære effekter induisert av soppgiften alternariol..... | 6  |
| Lydiane Angier: Bringing the Exposome concept into life .....              | 11 |
| Aksel Bernhoft: Blybatteri forgiftet stor melkekubesetning .....           | 14 |
| Redaksjonen og styret .....  | 18 |
| Vedtekter for Seksjon for toksikologi.....                                 | 19 |



## Intervju med Anita Solhaug

Forsker innen mattrygghet (muggsoppgifter),  
Veterinærinstituttet.

Vinner av NSFTs publikasjonspris i toksikologi 2015

### **1. Hvordan føles det å vinne prisen?**

Det var kjempegøy! Først så var det jippi!! Så husker jeg at jeg tenkte -ja vet du, det fortjente vi for den artikkelen ble jo ganske bra. Også fikk jeg en skrekkblandet-fryd følelse.. oj nå skal jeg holde foredrag i Beitohallen på vintermøtet. -Men det gikk jo bra det også. Veldig gøy var det faktisk ☺

### **2. Kan du si litt om arbeidet/ prosjektet bak artikkelen?**

Prosjektet gikk blant annet ut på å undersøke cellulære effekter av muggsoppgifter som ikke var så godt karakterisert. Vi fant fort ut at muggsoppgiften alternariol (AOH), induerte en rekke artige effekter. Disse effektene kan dere forresten lese om i artikkelen lengre bak. Den vel mest snodige effekten, iallfall den mest synlige, var at makrofagene fullstendig forandret fasong etter eksponering. Makrofager har jo den egenskapen at de kan forandre seg, altså differensiere til flere typer makrofager litt ettersom hva de utsettes for, for så å sette i gang en egnet immunrespons. Vi ønsket så å finne ut hvorfor dette skjedde og med god hjelp fra masterstudenten

Cathrine Wisbech, gikk vi så i gang med å karakterisere disse differensierte cellene.

### **3. Hvorfor/ hvordan begynte du å jobbe med dette feltet (tox og mykotoksiner)?**

Jeg begynte å jobbe med cellulær toksikologi da jeg tok doktorgrad (2000 – 2005) på Folkehelseinstituttet, seksjon for luftforurensning og støy. Her undersøkte jeg mekanismer på hvordan PAHer induerte celledød (apoptose). Min veileder var Jørn Holme, som jeg siden har fortsatt å samarbeide med. Etter en liten omvei med genterapi-forskning på Rikshospitalet, endte jeg igjen opp med toksikologi. Denne gangen som post.doc på Veterinærinstituttet. Her forsker jeg på mykotoksiner og effekter på immunsystemet og tarm. Etter to post.doc perioder her har jeg endelig fått fast stilling som forsker (!!!! ☺), så mer forskning på mykotoksiner vil nok komme fra meg i tiden fremover.

#### **4. Hva er det som gjør dette feltet spennende for deg?**

Det som er så fascinerende med toksikologi er at det er så anvendt. Man forstår jo at det kan være helseskadelig å spise muggent brød og frukt. Jeg undersøker hvorfor. Å «grave» seg inn i cellulære signalsystemer er utrolig morsomt og til tider komplisert. Det er skikkelig gøy når man finner heftige effekter, slik som disse differensierte makrofagene, selv om det beste for mattryggheten vel er og ikke finne noen negative effekter i det heletatt.

#### **5. Jobber du med noen andre prosjekter nå?**

Jeg har nettopp avsluttet et prosjekt der vi har jobbet med kombinasjonseffekter. Det er jo viktig å få informasjon om inntak av mange forskjellige muggsoppgifter samtidig kan føre til større eller mindre effekt enn forventet. Forventet effekt er jo oftest basert på inntak av enkelt toksiner. For å gjøre slike forsøk er det ikke bare å slenge oppi en haug med toksiner og sammenligne disse effektene med effekter av enkelt toksinene... nei slike forsøk må planlegges nøye. Vi har også brukt forskjellige prediksjonsmodeller i vår tilnærming. Heldigvis hadde vi en flink masterstudent, Line M Karlsøen, som klarte å holde styr på alt dette. Resultatet av dette arbeidet er nettopp publisert og kan leses her. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2745313>  
1 Jeg kan i grunn tenke meg å jobbe mer med kombinasjonseffekter, men per i dag har jeg ikke flere slike prosjekter på gang.

Akkurat nå holder vi på med å undersøke virkningen av mykotoksiner på samspillet

mellom immunceller og tarmceller. Altså, immunceller og tarmceller sender jo signaler til hverandre. Dersom tarmcellene finner noe "skummelt" sier de ifra til immuncellene og vice versa. Dette samspillet kan muligens forstyrres av mykotoksiner. Jeg prøver derfor å lage et litt komplisert in vitro system bestående av flere celletyper der jeg nettopp kan undersøke disse interaksjonene. Jeg dyrker tarm epitelceller i en liten kurv. Disse tarmcellene differensierer seg faktisk til polariserte tarmceller med både mikrovilli og tight junctions. Rett under denne kurven har jeg makrofager, slik som det på en måte er i kroppen vår. Planen er så å eksponere tarmcellene med f.eks mykotoksiner, som vi jo får i oss via maten, og se på effekter, f.eks cytokinproduksjon fra makrofagene. Det hadde også vært veldig gøy å inkludere mikrobiota i denne modellen, selv om det muligens ikke frister å ta bakterier inn på cellelabben....

#### **6. Hva liker du å gjøre på fritiden?**

Foruten å løpe etter to gutter på 6 og 9 år som skal på ski, svømming eller sykkel, så liker jeg å lese bøker, strikke, stelle tomatene i drivhuset mitt samt se på gode filmer/serier som Game of Thrones, House of Cards eller et eller annet med vampyrer ;).

Vinner av NSFT publikasjonspris, Toksikologi: Solhaug A, Wisbech C, Christoffersen TE, Hult LO, Lea T, Eriksen GS, Holme JA. Toxicol Lett. 2015 Nov 19;239(1):9-21. The mycotoxin alternariol induces DNA damage and modify macrophage phenotype and inflammatory responses.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2634117>  
9

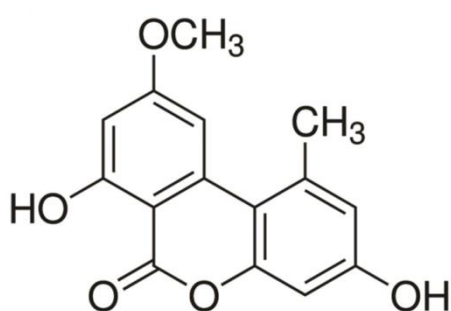
## Cellulære effekter induisert av soppgiften alternariol

Anita Solhaug (Anita.Solhaug@vetinst.no)

Seniorforsker, Veterinærinstituttet, Oslo

### Sopp og soppgifter

Når vi spiser kornprodukter, grønnsaker og frukt får vi i oss muggsoppgifter, såkalte mykotoksiner. Hvis vi får i oss for mye mykotoksiner over tid, kan det være uheldig for helsa vår. Jeg har jobbet med å karakterisere cellulære effekter av mykotoksinet alternariol (AOH, fig 1). AOH er et av flere mykotoksiner som produseres av soppen *Alternaria*. Denne soppen er et kjent plantepatogen og tilhører gruppen svartsopp på grunn av sin karakteristiske svarte farge (fig. 1). I motsetning til mange andre muggsopper har *Alternaria* god evne til å tilpasse seg forskjellige miljøer, og finnes derfor mer eller mindre overalt.



**Figur 1 Molekylstruktur av AOH og *Alternaria* infisert tomat.**

I Europa er AOH funnet i 31 % av mat/fôr prøver i konsentrasjoner fra 6.3 til 1840 µg/kg. Den høyeste konsentrasjonen ble funnet i matgruppen belgfrukter, nøtter og oljefrø. Det estimerte inntaket for mennesket er kalkulert til å være relativt lavt (1.9 - 39 ng/kg/bw/dag), men det overskrider bekymringsgrensen (TTC, threshold for toxicological concern) for genotoksiske forbindelser på 2.5 ng/kg/bw/dag [1]. Det er pr i dag ingen regulering på mengde AOH i mat eller fôr.

### Toksisitet og opptak

Det finnes veldig få dyreforsøk (*in vivo*) med AOH, men generelt er AOH funnet å ha lav akutt toksisitet. Det er midlertidig blitt foreslått at det er en sammenheng mellom forekomst av strupekreft og inntak av AOH, men dette er ikke avklart [1]. I motsetning til de få *in vivo* studiene som er gjort, har det blitt gjort en rekke studier med cellekulturer (*in vitro*) som indikerer at AOH er genotoksisk [2].

Vi får i oss AOH hovedsakelig gjennom maten. Tarmen er derfor den første barrieren og da et typisk målorgan. I en nylig musestudie er det vist at opptaket av AOH via tarmen er relativt begrenset [3]. Likevel kan ikke effekter av AOH utelukkes siden betennelser i tarmen teoretisk kan øke både opptak og eventuelle toksiske effekter av AOH. I tillegg til tarm epitel er immunceller et typisk mål da den

største ansamlingen av immunceller nettopp finnes ved og omkring tarmen. Immunceller er også kjent for å være spesielt følsomme for flere typer mykotoksiner. I våre studier av hvordan AOH kan føre til toksiske effekter har vi derfor brukt makrofager som modellsystem.

**Mekanismer for AOH induert toksisitet**

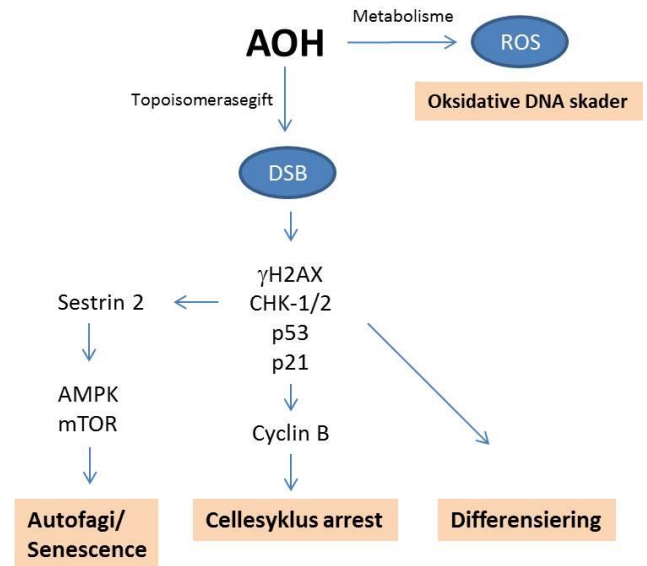
*In vitro* er det vist at AOH induserer flere typer DNA skader. Disse inkluderer oksidativ DNA skader, enkeltrådbrudd (SSB) og dobbeltrådbrudd (DSB). I prinsippet så er det minst to forskjellige mekanismer som ligger til grunne for dette.

- 1) Dannelse av reaktive oksygen forbindelser (ROS) via AOH metabolisme (oksidativ DNA skade, SSB)
- 2) AOH virker som en topoisomerasegift (DSB)

Studier indikerer at AOH sin effekt på topoisomerase er den viktigste årsaken til flere av nedstrøms effektene som er observert. Topoisomerase er et viktig enzym som forhindrer super-krøll av DNAet med etterfølgende DNA brudd under replikasjon og translasjon av DNA. AOH er vist å stabilisere DNA-topoisomerase komplekset slik at DNA syntesen i både replikasjon- og translasjonsgafler stopper opp. Dette er en situasjon som er kjent for å resultere i DSB.

I hovedsak har jeg brukt cellelinjen RAW264.7 (musemakrofager) for å studere effekter induert av AOH. De observerte effektene kan hovedsakelig deles inn i 3 bolker: 1) cellyklus arrest, 2) autofagi/senescence og 3) differensiering (fig 2) [2]. Mest sannsynlig er

disse 3 bolkene ikke separate uavhengige endepunkter, men et resultat av et komplisert nettverk av signalsystemer som griper inn i hverandre.



**Figur 2 Foreslåtte mekanismer induert av AOH i RAW264.7 makrofager**

Cellesyklus arrest [4, 5]: Stopp i cellyklus er en vanlig respons på DNA skade slik at cellen kan få tid til å reparere skaden før den igjen begynner å dele seg. Er skaden for omfattende dør cellen (apoptose). I flere cellysystemer er det observert at AOH induserer en mer eller mindre fullstendig stopp i cellyklus i G2 fasen, uten at det induseres celledød i særlig grad. For å dukke ned i mekanismene bak denne G2 stoppen har vi sett at AOH, antagelig som følge av DSB, induserer fosforylering (aktivering) av H2AX. Dette er et protein som finnes i kjernen og aktivering av denne indikerer DSB. Vi fant vi også en aktivering av dette proteinet også i ikke-delende makrofager (humane primære makrofager), noe som antagelig tilsier at AOH i

sin egenskap av å være en topoisomerasegift har effekt på både DNA replikasjon (proliferende celler) og translasjon (proliferende og ikke-proliferende celler). Videre ser vi en aktivering av en signaliseringsvei som er vanlig ved DNA-skade og som fører til en G2 arrest. Denne signalveien inkluderer aktivering av blant annet chk-1/2, p53, p21 og cyclin B. Etter en lengre eksponering for AOH ser vi også mange av cellene ender opp med å få abnormale kjerner, inkludert mikrokjerner og polyploidy (mange kjerner pr celle). Dette kommer antagelig av at AOH i tillegg til å inducere G2 arrest også forstyrrer den siste delen mitosen, cytokinesen (cytoplasmatisk deling), den siste del av mitosen hvor en celle blir til to.

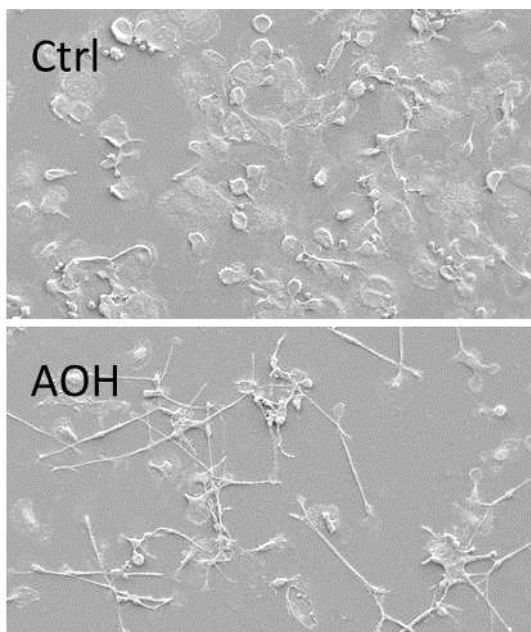
Autofagi og senescence [6]: Videre observerte vi at AOH behandlede RAW264.7 makrofager hadde mange intracellulære vakuoler. Ved hjelp av fargestoffet acridine orange, ble disse vakuolene identifisert som sure vakuoler. Dette er et typisk kjennetegn for celler som har en økt grad av autofagi. Autofagi er en naturlig prosess som skjer i alle celler, der skadde proteiner og organeller ender opp i vakuoler som smelter sammen med lysosomer hvor de blir degradert og kan gi opphav til ny energi og byggesteiner. Det er kjent at forskjellig former for stress, inkludert DNA skade kan inducere økt autofagi i celler. Dette så ut til å være tilfellet med AOH eksponerte makrofager. Vi identifiserte også autofagi med elektronmikroskopi (TEM), hvor vi tydelig kunne se vakuoler med dobbeltmembran som inneholdt cellekomponenter, også kalt autofagosomer. Disse autofagosomene dannes ved en innbuktning av membraner for så å ta

opp cellekomponenter som så fraktes til lysosymene for degradering. Vi påviste også en økt forekomst av LC3, som er et protein som spesielt finnes på autofagosomer, samt aktivering av signalveien Sestrin 2 - AMPK - mTOR, som er sentral i autofagi. Etter en mer vedvarende AOH eksponering, gikk cellene til slutt inn i senescence, en tilstand som ofte blir karakterisert som irreversibel, ikke-delende og inaktiv. I likhet med autofagi kan senescence induseres av DNA skade og cellulært stress. Det er også kjent at autofagi kan føre til senescence. Vi har derfor foreslått at AOH inducerer autofagi etterfulgt av senescence som følge av DNA skade og stress.

Differensiering[7]: I tillegg til at våre AOH behandlede makrofager både ble større (G2 arrest) og hadde mange vakuoler, observerte vi en stor forandring i morfologi. Cellene gikk fra å være runde til en mer stjerneformet. Ganske kult egentlig! Siden differensiering / polarisering, altså forandring av cellefunksjon, er en velkjent egenskap til makrofager som gjør de rustet til å igangsette forskjellige immunreaksjoner, gikk vi nå i gang med å undersøke om AOH også induserte differensiering av makrofager. En kan skille ulike typer makrofager fra hverandre ved at de uttrykker forskjellige overflatereseptorer og skiller ut forskjellige cytokiner. Vi fant at AOH forandret uttrykk av flere overflatereseptorer på makrofagene og stimulerte utskillelse av cytokiner som er assosiert med betennelse. Mønsteret vi fant stemte imidlertid ikke overens med tidligere karakteriserte makrofagtyper (M1, M2) eller dendrittceller (DC), som makrofager kan differensiere seg til. Våre makrofager landet heller et sted mellom



M1 og DC. Tatt i betraktning alle stressfaktorene som AOH induserer i makrofagene (ROS, DNA skade, autofagi) er dette kanskje ikke så rart. Kartleggingen av alle de forskjellige makrofag sub-typene er heller langt fra fullstendig ennå. I tillegg til å bruke RAW264.7 makrofag cellelinjen, undersøke vi disse effektene også ved å bruke primære humane makrofager (makrofager differensiert fra monocytter isolert fra perifert blod; PBMC). AOH induserte også her en meget markert differensiering, men heller ikke disse kunne klassifiseres som M1, M2 eller DC. Differensieringen skjedde uavhengig av ROS produksjon, og kunne ikke assosieres med en spesifikk cellyklus arrest. Det er allikevel fristende å anta at denne differensieringen er en stressrespons som kan knyttes opp mot AOH indusert DNA skade, men dette krever flere undersøkelser for å finne ut av.



**Figur 3 AOH indusert differensiering av humane makrofager**

### Relevans og implikasjoner

Soppgiften AOH er helt klart genotoksisk *in vitro*. Mekanismene kan antagelig tilskrives at AOH er en topoisomerasegift. Det at AOH mest sannsynlig ikke er direkte genotoksisk (f.eks danner DNA addukter) vil si at det finnes en terskelverdi for effekt. Dagens grenseverdi (TTC) for AOH på 2.5 µg/kg kroppsvekt/dag, som i dag brukes av EFSA, kan derfor muligens økes. Dette vil få stor betydning for risikovurdering av AOH. De fleste effekter av AOH kan ses ved relativt høye konsentrasjoner (>15 µM), og ved et normalt kosthold vil man antagelig ligge godt under disse nivåene. Man skal allikevel ikke avskrive negative helseeffekter forårsaket av denne muggsoppgiften da kombinasjonseffekter, med andre muggsoppgifter eller andre forbindelser som befinner seg i tarmen kan oppstå og gi økt effekt. En kan også tenke seg økt effekt av AOH om man i tillegg har en betennelse i tarmen som på den måten kan tenkes å gi økt opptak og/eller synergieffekter med forbindelser som er oppregulert under betennelse. Det er helt klart et stort behov for *in vivo* studier, spesielt med hensyn på AOH indusert genotoksisitet i tarm og effekt på immunsystemet.

## Referanser:

1. EFSA: Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal* 2011, 9:2407.
2. Solhaug A, Eriksen GS, Holme JA: Mechanisms of Action and Toxicity of the Mycotoxin Alternariol: A Review. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2016.
3. Schuchardt S, Ziemann C, Hansen T: Combined toxicokinetic and *in vivo* genotoxicity study on *Alternaria* toxins. EFSA supporting publication 2014:EN-679, pp. 130.
4. Solhaug A, Vines LL, Ivanova L, Spilsberg B, Holme JA, Pestka J, Collins A, Eriksen GS: Mechanisms involved in alternariol-induced cell cycle arrest. *Mutation research* 2012, 738-739:1-11.
5. Solhaug A, Holme JA, Haglund K, Dendele B, Sergent O, Pestka J, Lagadic-Gossmann D, Eriksen GS: Alternariol induces abnormal nuclear morphology and cell cycle arrest in murine RAW 264.7 macrophages. *Toxicol Lett* 2013, 219:8-17.
6. Solhaug A, Torgersen ML, Holme JA, Lagadic-Gossmann D, Eriksen GS: Autophagy and senescence, stress responses induced by the DNA-damaging mycotoxin alternariol. *Toxicology* 2014, 326:119-129.
7. Solhaug A, Wisbech C, Christoffersen TE, Hult LO, Lea T, Eriksen GS, Holme JA: The mycotoxin alternariol induces DNA damage and modify macrophage phenotype and inflammatory responses. *Toxicol Lett* 2015, 239:9-21.

## **Bringing the Exposome concept into life: epidemiological, metrological and statistical challenges**

Lydiane Agier

Team of Environmental Epidemiology applied to Reproduction and Respiratory Health.

Institut Albert Bonniot, CRI INSERM/UJF U82

Rond-point de la Chantourne

38700 La Tronche, France

The Exposome concept encompasses "the totality of human environmental exposures from conception onwards, complementing the genome"<sup>1</sup>. While most existing environmental epidemiological studies have focused on a single environmental factor assessed at a single time point, the exposome highlights the need for accounting for populations' concomitant exposure to a set of pollutants, at levels that vary with time. Assessing many exposures simultaneously and repeatedly over time is expected to provide a more accurate estimation of the impact of the environment on human health. Moreover, following the sequencing of the genome in the 1990s, epidemiological studies have shown a limited impact of genetic variants on health, leaving a potentially large role for environmental exposures and for gene-environment interaction effects.

One major challenge for exposome projects lies in the assessment of "the totality" of environmental exposures. Although the exposome was restricted to the combined exposures from all sources that reach the

internal chemical environment<sup>2</sup>, exposures can be assessed at various levels (from environmental levels to internal doses affecting specific organs) and their assessment requires the use of many tools and technologies, including geographic information system-based environmental models (air pollutants and noise), environmental sensors (e.g. particulate matters), personal dosimeters (e.g. for air pollutants or radiations), photos (to document diet, cosmetic or drug use), biomarkers... This represents a substantial participation burden for volunteers. To limit this burden, outdoor exposome measurement tools should ideally be easy to use, robust, silent and with a long battery life. As per the internal exposome (e.g. viruses, bacterias and endocrine disruptors such as PCBs, phthalates or bisphenol A), biochemical assays need to be collected from a limited number of matrices (e.g. urine, blood) with a restrained number of repeated measurements.

The time variability in measurements can be large for a given exposure (typically compounds with a short half-life which are

quickly eliminated by the organism), such that the efficiency of one spot biospecimen to capture the average exposure over a given period is exposure-dependant. This leads to exposure misclassification, which is a central issue in environmental epidemiology<sup>3</sup>: it affects statistical power and induces bias when estimating the health effect in directions that are generally hard to predict<sup>4</sup>. To reduce this effect, there is a need for appropriate statistical tools to be used, but also for repeated samples so as to best estimate exposure, exposure variability and spot toxicologically-relevant exposure windows. Despite they may suffer a similar health effect estimation bias, 'omics technologies may provide in the future synthetic exposure or pathway biomarkers for these multiple expositions. Until this becomes true, comprehensively measuring the exposome remains complex and expensive notwithstanding the recent development of molecular epidemiology.

Most often in epidemiological studies, a large number of exposures are assessed but their health effects are independently reported exposure-by-exposure without accounting for multiple testing<sup>5</sup>; this leads to a high risk for false positive results and for selective reporting (i.e. only reporting the most significant associations). Alternatively, many statistical methods for variable selection can be used, such as Exposome Wide Association Studies (EWAS)<sup>6</sup>, data reduction methods, penalized regression, iterative model search or Bayesian model averaging. However, in the context of the exposome where some exposures are highly correlated, all these approaches suffer a

substantial rate of false positive signals as they hardly differentiate true predictors from correlated stressors<sup>7</sup>. In addition to this phenomenon, differential exposure misclassification may lead to erroneously attribute the effect of a compound varying strongly over time to another correlated exposure suffering a smaller temporal variability. Consequently, the statistical power of exposome studies is likely to be inhomogeneous across exposures. Further issues that will need to be accounted for relate to integrating omics data and to identifying confounding by co-exposures and synergistic effects (interactions or cocktail effects with other exposures or biological or behavioral factors), for which it remains unclear which statistical model would best perform, and what sample size would be required to provide sufficient statistical power. Hypothesis driven approaches such as pathway analyses may also be investigated.

Recently, several Exposome-related research initiatives have been launched. In Europe, the HELIX project relies on 6 mother-child cohorts and aims to describe the early-life exposome and to characterize its impact on specific health outcomes in childhood<sup>8</sup>. The rationale is that environmental exposures during fetal or early life are believed to have adverse effects on growth, obesity, neurodevelopment and respiratory health. A recent descriptive analysis of the outdoor exposome showed a strong family-effect but also several strong between-family correlations that needs to be kept in mind when interpreting exposures' association with health<sup>9</sup>. Further studies will aim to describe the existence of subgroups of the

population sharing similar environmental exposure patterns. In terms of exposome-health association, simulation studies have shown that linear regression methods all displayed a substantial false positive rate, and none of the multivariate methods tested dominated the others across all scenarios and properties. These methods now need to be tested on real data.

To conclude, the exposome is a broad concept that currently raises many technical and statistical challenges. Making steps forward will require the implication of a wide range of discipline: exposure sciences, toxicology, biology, epidemiology, statistics... Ultimately from a public health perspective, a better understanding of the environmental risk factors may allow improving prevention strategies and health policies.

1 Wild CP. Complementing the genome with an "exposome": the outstanding challenge of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention* : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology 2005; 14(8): 1847-1850.

2 Rappaport SM. Implications of the exposome for exposure science. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2011; 21(1): 5-9.

3 De Klerk N, English D, Armstrong B. Review of the Effects of Random Measurement Error on Relative Risk Estimates in Epidemiological Studies. *Int. J. Epidemiol.* 1989; 18 (3): 705-712.

4 Dosemeci M, Wacholder S, Lubin JH. Does nondifferential misclassification of exposure always bias a true effect toward the null value? *Am J Epidemiol.* 1990 Oct;132(4):746-8.

5 Slama R, Vrijheid M. Some challenges of studies aiming to relate the Exposome to human health. *Occup Environ Med* 2015; 72(6): 383-384.

6 Patel CJ, Bhattacharya J, Butte AJ. An Environment-Wide Association Study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. *PLoS ONE* 2010; 5(5): e10746.

7 Agier L, Portengen L, Chadeau-Hyam M, et al. A Systematic Comparison of Linear Regression-based Statistical Methods to Assess Exposome-Health Associations. *Environ Health Perspect*: In press.

8 Vrijheid M, Slama R, Robinson O, et al. The human early-life exposome (HELIX): project rationale and design. *Environ Health Perspect* 2014; 122(6): 535-544.

9 Robinson O, Basagana X, Agier L, et al. The Pregnancy Exposome: Multiple Environmental Exposures in the INMA-Sabadell Birth Cohort. *Environ Sci Technol* 2015; 49(17): 10632-10641.

## Blybatteri forgiftet stor melkekubesetning

Aksel Bernhoft, Veterinærinstituttet; Dag Lindheim, TINE; Bente Fauske, Mattilsynet; Øyvind Enger, NMBU; Helle Margrete Meltzer, Folkehelseinstituttet

Blyforgiftning hos storfe på grunn av bil-/traktorbatterier med bly er et velkjent problem i landbruket, men det ser heldigvis ut til at forgiftninger har blitt mer sjeldne på grunn av informasjon om denne faren, samt gode innsamlingsordninger for avfall. Den vanlige historien er nysgjerrige dyr som slikker på henslengte blybatterier som har ligget på tilgjengelig uteareal. Vanligvis er sakene av mindre omfang og gjelder få dyr. Her er en rapport fra en hendelse av stort omfang.

### Traktorbatteri i fôrblenderen

I en storfebesetning på østlandsområdet med rundt 80 melkedyr og mange ungdyr og kalver var det en alvorlig hendelse av blyforgiftning sommeren 2015. Et traktorbatteri var blitt lagt i traktorskuffen som så ble brukt til å fylle opp fôrblenderen. Dermed ble batteriet kuttet opp sammen med grovfôret og fordelt til kyrne og ungdya. Et slikt blybatteri består for det meste av bly i form av gitter og pulver, i tillegg til svovelsyre og plastbeholder.

### Bly i tankmelka på gården

Bonden oppdaget uhellet da fôret var spist; Han så plastrester på fôrbrettet, men forstod ikke alvorret i situasjonen. Melk ble levert til meieriet to ganger hver på ca 3000 kg, før saken ble varslet. Melken fra gården ble i mellomtiden blandet inn i tilsammen 600.000 kg melk og laget til diverse meieriprodukter. Fire dager etter blyinntaket døde et ungdyr uten at dette ble sett i sammenheng med at det hadde vært et batteri i fôret. Dagen etter viste flere ungdyr sentralnevrologiske symptomer med ataksi (ustøhet, koordinasjonsproblemer), nedstemthet og delvis blindhet. Da ble praktiserende

veterinær, TINE og Mattilsynet koblet inn. Det ble tatt prøve av melka i gårdstanken for blyanalyse. Samtidig ble all produksjon av meierivarer hvor melk fra denne gården inngikk, sporet opp, sperret for distribusjon og analysert for bly. Disse analysene, som ble utført hos Eurofins, viste at tankmelka på gården inneholdt 0,12 mg bly/kg som er seks ganger over grenseverdien i melk på 0,02 mg/kg. Imidlertid inneholdt ingen av meieriproduktene bly over grenseverdien. Saken ble diskutert med Veterinærinstituttet og Folkehelseinstituttet. Det var enighet om å oppheve sperringen av de produserte melkeproduktene, men videre levering av melk, samt dyr til slakt fra denne gården ble sperret inntil videre. Medisinsk behandling av dyra ble vurdert som uoverkommelig, men påkjente dyr skulle avlives.

### Mange dyr døde eller avlivet

De nærmeste dagene ble flere ungdyr syke og døde eller ble avlivet, mens det var færre syke blant kuene. Grunnen til at det gikk hardest utover ungdya i blyforgiftningsutbruddet har antakelig sammenheng med at unge dyr er mest følsomme for bly. Dessuten fikk de mer

av det kontaminerte fôret enn kyrne som i tillegg fikk betydelige mengder kraftfôr. To uker etter blyinntaket var 15 ungdyr døde eller avlivet på grunn av blyforgiftning, mens ei ku ble avlivet etter 11 dager. Det ble tatt prøver av flere av disse dyra og analysert ved Norges miljø- og biovitenskapelige universitet (NMBU) på Ås. I tillegg ble blodprøver tatt ut første uken sendt for analyse ved

Veterinærhøgskolen i Hannover. Fra to ungdyr som hadde sentralnevrologiske symptomer med ataksi, viste blodprøver som ble tatt ut en uke etter blyinntaket, blykonsentrasjoner på 0,42 og 0,55 mg/kg som er forenlig med blyforgiftning. To andre påkjente dyr som virket mer eller mindre blinde to uker etter inntaket, hadde da blykonsentrasjoner i blodet på 0,65 og 0,66 mg/kg. I muskelprøver fra disse to dyra ble det målt 0,11 og 0,14 mg bly/kg, og i leveren 6,7 og 8,7 mg/kg. Bly har begrenset distribusjon til muskulatur, men er kjent for å distribueres til høye konsentrasjoner i indre organer som lever og nyre, og etter hvert til beinvev [1].

Grenseverdiene for bly i kjøtt og i indre organer som lever er henholdsvis 0,1 og 0,5 mg/kg [2].

Kua som ble avlivet 11 dager etter inntaket, fikk innledningsvis diare, og nedsatt appetitt etter ei uke. Det ble da tatt blodprøve av kua, som viste en blykonsentrasjon på 0,80 mg/kg. Kua ble etter hvert tydelig påkjent og avlivet. Hun hadde da en blykonsentrasjon i melk og muskelprøve på henholdsvis 1,1 og 0,25 mg/kg, mens lever og nyrebark viste henholdsvis 12 og 80 mg/kg. Det ble også tatt prøver av nettmage- og vominnhold, samt fra avføring fra denne kua. I fem undersøkte prøver av nettmageinnholdet var

blykonsentrasjonen svært varierende, fra 8,3 til 120 mg/kg, mens fem prøver av vominnholdet viste mindre variasjon, fra 22 til 51 mg/kg. Ujevn fordeling av bly i nettmagen er forenlig med at metallbiter som bly kan holdes tilbake i nettmagen, mens det i vomma i større grad er blanding av innholdet. Avføringsprøve tatt ut samtidig viste 180 mg/kg. Ei anna ku hadde ketose som muligens kunne knyttes til blyeksponeringen. Det ble tatt blodprøve av den ei uke etter blyinntaket, som viste 0,37 mg/kg og som også er forenlig med blyforgiftning. Til sammen fire kyr og 18 ungdyr døde eller ble avlivet etter hendelsen. Den siste kua ble funnet død på beite åtte uker etter blyinntaket, og leverprøve viste blykonsentrasjon på 7,7 mg/kg.

### **Sammenheng mellom bly i melk og blod**

TINE tok regelmessig ut prøver av tankmelka på gården som viste jevn nedgang. Ved målinger 3 og 3 ½ uke etter blyinntaket var blykonsentrasjonen under grenseverdien på 0,02 mg/kg, og omsetningsforbudet av melk ble opphevet. For å se hvordan blyinnholdet i melka fordelte seg hos enkeltdyr og for å få mulighet til å holde melka fra enkeltdyr unna tanken, tok TINE ut prøver av alle melkekyrne. Dette ble gjort to uker etter blyinntaket. Prøvene ble analysert hos Eurofins. Resultatene i melka varierte da fra høyeste blykonsentrasjon på 0,25 mg/kg og ned til 0,008 mg/kg med gjennomsnittskonsentrasjon 0,036 mg/kg. Alle disse melkeprøvene var altså lavere enn fra kua som ble avlivet på dag 11. Den viste 1,1 mg/kg i melka på sin siste levedag.

For å få et bilde av sammenhengen mellom bly i blod og melk, ble det tatt prøver av fire kyr

som hadde de høyeste blynivåene i melka ved undersøkelsen to uker etter inntaket. Dette ble gjort fire dager etterpå (2 ½ uker etter blyinntaket). Prøvene ble analysert ved NMBU. Tabell 1 viser utviklingen av bly i melk fra 2 til 2 ½ uker etter inntaket, og sammenhengen mellom bly i blod og melk. Alle dyra viste en tydelig nedgang av blykonsentrasjonen i melk i løpet av disse fire dagene. Merk at prøvene ved 2 og 2 ½ uker er analysert ved ulike laboratorier, noe som muligens kan innebære en viss usikkerhet ved slik sammenligning. Imidlertid viste tankmelkprøvene, som er analysert ved samme laboratorium, den samme nedadgående tendensen, noe som styrker sikkerheten ved sammenligningen. Sammenhengen mellom blykonsentrasjonene i melk og blod viste at blynivået i melk gjennomgående var lavere enn i blod fra blyeksponerte kyr uten kliniske symptomer. Kua med akutte forgiftningssymptomer hadde høyere konsentrasjon av bly i melk enn i blod (henholdsvis 1,1 og 0,80 mg/kg). Resultatene er i samsvar det som er beskrevet i andre rapporter fra akutt blyforgiftning hos melkekyr: At forholdet mellom bly i melk og blod er relativt lavt ved moderate blykonsentrasjoner i

blodet, men ser ut til å øke eksponentielt ved høyere konsentrasjoner [3, 4]. Men det må presiseres at blyinnholdet i melk fra subklinisk eksponerte kyr likevel kan være betydelig og en faktor som må hensyntas når man vurderer mattrygghet.

Selv om blykonsentrasjonen i melk fra blyeksponerte kyr typisk viser en nedadgående tendens over tid, er det også vist at nivået i melk kan fluktuere [4]. Dette kan være relatert til frigjøring av bly fra skjelettet i forbindelse med mobilisering av kalsium ved ny laktasjon. Sannsynligvis vil ikke en slik fluktuasjon i blykonsentrasjonen i melk fra enkeltdyr gi stor endring i blyinnholdet i tankmelka.

### Mest bly i gjødsla

Absorpsjon av bly fra fordøyelsestrakten kan variere betydelig, men er generelt noe lavere for bly i metallisk form enn for organiske blyforbindelser – især om fragmentene er av en viss størrelse [1]. Opptaket av slikt metallisk bly er imidlertid tilstrekkelig til å kunne skade dyr som eksponeres og føre til forhøyede blykonsentrasjoner i melk, kjøtt og innmat. Det meste av blyet passerer tarmen og havner i avføringen, så det er viktig at

*Tabell 1. Utviklingen av bly i melk fra 2 til 2 ½ uker etter inntaket og sammenhengen mellom bly i melk og blod fra fire kyr.*

|             | <b>Bly i melk 2 uker etter inntaket (mg/kg)</b> | <b>Bly i melk 2 ½ uker etter inntaket (mg/kg)</b> | <b>Bly i blod 2 ½ uker etter inntaket (mg/kg)</b> | <b>Forholdet mellom blykonsentrasjonen i melk og blod</b> |
|-------------|---|---|---|---|
| <b>Ku A</b> | 0,25  | 0,11  | 0,21  | 0,52  |
| <b>Ku B</b> | 0,14  | 0,083   | 0,30  | 0,28  |
| <b>Ku C</b> | 0,11  | 0,070   | 0,11  | 0,64  |
| <b>Ku D</b> | 0,071   | 0,052   | 0,19  | 0,27  |



håndteringen av gjødsla vurderes i miljømessig sammenheng.

### **Konklusjon**

Blyforgiftning hos storfe innebærer mye lidelse for dyra det angår, og når saken har slikt omfang som her, er den en katastrofe for gården. Rester av bly kan finnes i animalske produkter, og blykonsentrasjonen i melk kan være over grenseverdien selv om dyra ikke viser kliniske symptomer. Melka fra besetningen ble holdt tilbake fra levering i flere uker til den var under grenseverdien. Det meste av fortært bly kom ut med avføringen og gjødselhåndtering må vurderes i miljømessig sammenheng.

### **Referanser**

1. EFSA 2004. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to lead as undesirable substance in animal feed. EFSA J 71:1-20.
2. Forskrift om visse forurensende stoffer I næringsmidler, gjeldende fra 3.7.2015. Helse og omsorgsdepartementet.
3. Oskarsson A, Jordhem L, Sundberg J, Nilsson N-G, Albanus L. 1992. Lead poisoning in cattle – transfer of lead to milk. Sci Tot Environ. 111(2):83-94.
4. Bischoff K, Higgins W, Thompson B, Ebel JG. 2014. Lead excretion in milk of accidentally exposed dairy cattle. Food Addit Contam Part A 31(5):839-844.

## Styret i

### I redaksjonen:

Mariell Negård (redaktør)  
marne11235@gmail.com

Audun Storset  
audun@lionheartbrothers.com

Iselin Rynning  
Iselin.rynning@stami.no

### Toksikologiseksjonen:

#### **Leder:**

Hubert Dirven  
hubert.dirven@fhi.no

#### **Styremedlemmer:**

Gry Koller  
Gunnar Sundstøl Eriksen  
Merete Grung  
Dag Marcus Eide  
Yke Arnoldussen  
Odd Andre Karlsen

#### **Varamedlemmer:**

Nina Landvik  
Vidar Berg

# Vedtekter for Seksjon for Toksikologi

§1. Seksjon for Toksikologi er en spesialseksjon underlagt Norsk Selskap for Farmakologi og Toksikologi (NSFT) (§ 3 Lov for NSFT). Seksjonen har som formål å være forum for foredrag og debatter i emner tilknyttet human- og økotoksikologi. I tillegg skal seksjonen fremme sosialt samvær og skape et kontaktnett mellom de med toksikologisk interesse. Seksjonen vil legge vekt på å drive opplysningsvirksomhet for allmennheten om effekten av fremmedstoffer på miljø og helse.

§2. Som medlem av Seksjon for Toksikologi kan opptas ordinære medlemmer i Norsk Selskap for Farmakologi og Toksikologi som er beskjeftet med toksikologi.

§3. Styret for seksjonen skal totalt bestå av 6 hovedmedlemmer og 3 varamedlemmer. De 6 hovedmedlemmene skal inkludere formann, sekretær, økonomiansvarlig og 3 styremedlemmer. Styremedlemmene velges normalt for en periode av 2 år, og det er ikke ønskelig at mere enn halvparten av styret stiller til valg samtidig. Styret bør reflektere medlemsmassen, og skal fortrinnsvis bestå

av representanter med både økotoksikologisk og humantoksikologisk bakgrunn. Videre bør både undervisningsmiljøene, forskningsmiljøene og forvaltningsinstitusjonene være representert i styret. Varamedlemmene har møterett på alle styremøter. Styret er beslutningsdyktig når alle hovedmedlemmer er innkalt og minst 2/3 har møtt opp. Styret utpeker sin representant til styret i NSFT. De tre vararepresentantene skal tiltre på møter dersom ordinære medlemmer melder forfall.

§4. Årsmøtet er seksjonens høyeste myndighet og avholdes i forkant av NSFT's generalforsamling. Hvert medlem som personlig møter på årsmøtet har én stemme. Årsmøtet velger representanter til styret og redaksjonsmedlemmer til "Toksikologen." Valg avgjøres ved simpelt flertall. Ved flere kandidater holdes valget skriftlig, og relativt flertall avgjør.

Tidspunkt for årsmøte fastsettes av styret, og medlemmene varsles senest 1 mnd. før fastsatt dato. Styret setter frist for når forslag til årsmøtet må være styret i

hende. Innkallingen sendes fra styret senest 14 dager før årsmøtet.

Ekstraordinært årsmøte kan innkalles dersom 1/3 av medlemmene eller et flertall i styret krever det.

§5. Valgkomiteen skal ha tre medlemmer som velges av årsmøtet hvert år. Valgkomiteen kommer med innstilling til valg av styremedlemmer, valgkomitémedlemmer og redaksjonsmedlemmer i "Toksikologen."

§6. "Toksikologen" skal ha minst 4 redaksjonsmedlemmer.

Redaksjonsmedlemmene bør fortrinnsvis sitte i to år før gjenvalg. "Toksikologen" bør komme ut to ganger per semester. Foreningens vedtekter og aktiviteter i styret skal gjengis i "Toksikologen."

§7. Forslag om vedtektsendringer må være styret i hende innen dagsorden for årsmøte utsendes. Forslag til endringer sendes medlemmene sammen med dagsorden. Behandling av forslag til vedtektsendringer må skje iht §7 i NSFTs lover.