

TOKSIKOLOGEN



Foto: Mariell Negård

Sommerhilsen fra redaksjonen

God sommer! Og snart god sommerferie. Dette er mitt første nummer som redaktør, og jeg håper dere blir like fornøyd som jeg.

Som sagt, juni har kommet og det er jo egentlig sommer med sol (krysser fingrene!), is, grillmat, og det som hører til for enhver av oss. Jeg håper alle får en kjempefin sommerferie, enten her i Norge eller utenfor.

I dette nummeret har vi innlegg fra Gunnar Eriksen fra Veterinærinstituttet, om faren for at hunder kan bli forgiftet av muggsopper via nedfallsfrukt og muggent fôr; Aage Haugen fra Statens arbeidsmiljø institutt om eksposom og eksposomikk,

samspillet mellom DNA, livsstil og miljøet for å bedre forstå årsaker til sykdom og å forebygge dem; Masterstudent Trygve Danielsen med Birgitte Lindeman og Tim Hofer fra Folkehelseinstituttet med sin oppgave på proteinskader forårsaket av oksidativ stress. Takk til dere alle sammen for artiklene.

Intervjuet denne gangen er med Merete Grung, som fikk "intervjustafetten" av Katrine Borgå fra forrige nummer. Hun er forsker på NIVA og professor II på UiO.

Redaksjonen vil også informere om Poulssonprisen og framtidige seminarer/konferanser.



Vennlig hilsen

A handwritten signature in black ink that reads "Mariell". The signature is written in a cursive, flowing style.

Mariell Negård, redaktør

Innholdsfortegnelse

Statuetter for Poulssonprisen	4
Info om seminarer / konferanser	5
Intervju med Merete Grung.....	7
Artikler	10
Gunnar Sundstøl Eriksen: Forgiftning av hunder med nervegift fra muggsopp	10
Trygve Danielsen: Analyse av proteinskader forårsaket av oksidativt stress.....	14
Aage Haugen: Omiks i miljøforskningen: Eksposom og eksposomikk	20
Redaksjonen og styret	24
Vedtekter for seksjon for toksikologi	25

Til høsten er det toksikologiseksjonens tur til å dele ut Poulssonprisen

Vi minner om statuttene for Poulssonforelesningen.

” Norsk Selskap for Farmakologi og Toksikologi (NSFT) avholder årlige forelesninger for å hedre minnet om den første norske farmakologen Poul Edvard Poulsson. Den utvalgte foreleseren tildeles Poulsson minnemedalje. Denne personen skal ha bidratt spesielt til den faglige utviklingen innen farmakologi og/eller toksikologi og ha vært en faglig inspirator også i Norge. Vedkommende bør fortrinnsvis være utlending. Det legges størst vekt på forskningsmessige bidrag, men det tas også hensyn til vesentlig innsats innen farmakologisk og toksikologisk undervisning, informasjon og/eller fagpolitisk aktivitet. Forslag til kandidat til å holde Poulsson-forelesningen kan fremmes av NSFT`s medlemmer og dets styre.

NSFT`s styre fatter beslutning om hvem som skal holde forelesningen. Forelesningen holdes fortrinnsvis på et møte om høsten sammen med et seminar over et tema som grenser inn til Poulsson-forelesningens tema. Poulssonmedaljen tildeles kandidater hvert tredje år innen hhv. basal farmakologi, klinisk farmakologi og toksikologi.”

Forslag til kandidater til Poulsson-medalje og forelesning kan sendes NSFT-styret (fristen gikk ut 31.mai.)

<http://nsft.net/poulssonmedaljen>



Foto: <http://nsft.net/poulssonmedaljen>

Informasjon om kommende konferanser og seminarer

Vårmøte 2015

Det planlagte vårmøtet om oppfølgingen av miljøgiftsmeldingen 2010 flyttes til slutten av august.

ISTERH2015 - International Society for Trace Element Research in Humans (ISTERH)

Konferansen holdes 18-22. oktober i Dubrovnik, Kroatia.

Denne konferansen fortsetter serien av fellesmøtene mellom ISTERH og NTES (Nordic Trace Elements Society). Dette året er temaet "Recent Advances in Trace Element Research in Health and Disease."

Programmet vil inneholde plenumsforelesninger, symposier, muntlige presentasjoner og poster. Det vil også være muligheter for sosiale arrangementer. Bidrag er velkommen innenfor trace element forskning med relevans for menneskers og dyrs helse og sykdom. Emner inkluderer: biokjemi, molekylærbiologi, epidemiologi, giftighet, ernæring, kosthold, miljøovervåkning samt arts og modellering, for å nevne noen.

Viktige datoer; abstrakt innsending og abstrakt gebyr 5. juni. Tidlig registrering 15. juni og hotell reservering 15. august.

<http://isterh2015.com/about-the-conference/welcome-message/>

EUROTOX 2015 – 51st Congress of the European societies of Toxicology

Konferansen holdes 13 – 16. september i Porto, Portugal. På Alfândega International Congress Center.

Temaet er "Bridging Sciences for Safety" hvor toksikologien står sentralt som et bindeledd mellom biologi, kjemi, farmakologi, fysiologi, og mot en tryggere verden.

Etterutdanningskursene (Continuing Education Courses, CEC) holdes den første dagen og er ganske populære. Det holdes kurs i det dominerende feltene innen toksikologi, som 3R metoder, nye narkotiske stoffer, terskelverdier av toksikologisk interesse, fare karakterisering, co-exposure risk assessment, og risikovurdering i mattrygghet.

Viktige datoer; tidlig registrering 29. mai, sen registrering 31. august, on-site registrering 1. september. Reise stønad varslings senest mai, frist for søknad for utstillere 31. juli.

<http://www.eurotox2015.com/>

4th Global Summit on Toxicology

Konferansen holdes august 24-26. 2015 i Philadelphia, USA.

Temaet er "Exploring the Tailored Strategies and Lucid Technologies in Toxicology and Pharmacology"

<http://toxicology.global-summit.com/>

NanOEH - 7th International Symposium on Nanotechnology: Occupational and Environmental Health

Konferansen holdes 18 – 22. Oktober i Legend Safari Lodge, Waterberg Region, Limpopo Province, Sør Afrika.

Viktige frister: abstrakt 31. mai, abstrakt akseptert 30. juni 2015. Registrering åpnet 25. mars 2015, tidlig registrering stenger 31. mai, sen registrering stenger 31. september.

Det er organisert av National Institute for Occupational Health (NIOH) og the Toxicology Society of South Africa (TOXSA). Målet er å gi en

plattform for presentasjoner av kunnskap gjennom forskning på spesifikke og relevante nanoteknologi problemstillinger knyttet til helse, miljø og sikkerhet.

<https://www.nanoeh2015.co.za/>

9CTDC - 9th Congress of Toxicology in Developing Countries.

Denne kongressen holdes 7-10 november i Natal, Brasil.

Dette arrangeres hvert tredje år og er sponset av IUTOX. Møtene er et forum for diskusjoner om toksikologiske problemstillinger som u-land vil møte i framtiden.

<http://iutox.org/ctdc.asp>

IATDMCT2015 – 14th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology.

Kongressen holdes i 11-15 Oktober i Rotterdam, Nederland.

Det vil bli plenumsesjoner, "round-table" sesjoner, og poster sesjoner.



Intervju med Merete Grung

Forsker innen akvatiske miljøgifter på NIVA og professor II på UiO

1. Hva er det/de "mest" spennende/utfordrende områdene i toksikologiforskningen?

For meg er det mest spennende at det er så mange ulike aspekter knyttet til toksikologi. Jeg har jobbet med alt fra forekomst av ulike miljøgifter, analyseteknikker, effekter på ulike organismer, cellulære mekanismer til risikovurdering. Aktivitetene ved NIVA er svært allsidige, og jeg trives veldig godt med å bruke ulike sider av meg selv og stadig lære nye ting. Håpet er at forskningen vi gjør bidrar til et bedre miljø, og en bedre forståelse av hvilke mekanismer som er viktige.

Ved NIVA har vi vært involvert i ulike utenlandsprosjekter, selv har jeg jobbet på prosjekter med utspring i både Bosnia Herzegovina og i Kina. Det har vært veldig meningsfylt å utveksle erfaringer med forskere derfra, og å jobbe sammen i ulike forskningsprosjekter. Ellers tror jeg at vi bare har sett begynnelsen på utfordringene knyttet til samvirke-effekter av miljøgifter. Som kjemiker ser jeg ofte hvor mange ulike forbindelser som finnes i enkelte miljøprøver, og det er derfor bra at dette kommer på dagsordenen.

Personlig er den største utfordringen at jeg har jobbet med så mange ulike prosjekter at jeg ikke synes jeg har et eget felt der jeg er «spesialist» lenger. Ved en institusjon som NIVA er dette på mange måter en fordel, men samtidig er det et savn å kunne jobbe litt mer spesialisert og smalt.

2. Og hva er det "minst" utfordrende/spennende/ morsomme?

De minst morsomme prosjektene å jobbe på er små prosjekter med en lav frihetsgrad eller liten grad av fleksibilitet. Noen få av prosjektene vi har ved NIVA er mer av typen konsulentoppdrag, og slike er jeg ikke like glad i.

3. Du ble ansatt som professor II i toksikologi ved Institutt for biovitenskap, UiO i fjor. Hvordan har de første månedene med sjonglering mellom forskerstillingen ved NIVA og professoratet ved UiO vært?

Det siste året har vært travelt! Jeg har merket at det har blitt mindre tid til fritidsaktiviteter enn tidligere. Heldigvis har jeg ikke små barn lenger, slik at det er rom for å jobbe mer. I tillegg er det spennende å jobbe med studenter, og få nye kontakter gjennom stillingen ved universitetet.

4. Går det an å trekke frem noen av de mest markante forskjellene og likhetene mellom en typisk arbeidsdag ved UiO og en ved NIVA?

Forskjellene er ekstra tydelig for meg, siden oppgavene som IIer ved universitetet er sterkt knyttet til studenter i form av undervisning og veiledning, i tillegg til oppgaver som å være i internsensor. Den typen oppgaver er det lite av ved NIVA for mitt vedkommende, selv om vi har noen MSc og PhD-studenter som er tilknyttet instituttet. For meg er det derfor definitivt flere forskjeller enn likheter ved arbeidsdagen ved de to institusjonene.

Likheten består i at vi benytter mye av de samme teknikkene, og er opptatt av de samme problemstillingene begge steder.

5. Du er jo også med i faggruppen for plantevernmidler i VKM. Hvilke oppgaver og hvilken rolle har du i dette vervet?

Faggruppens oppgave er å gjøre en risikovurdering av plantevernmidler som brukes i Norge. Dette kan være i forbindelse med at produsenter søker om tillatelse for nye plantevernmidler, eller som ledd i en fortsatt godkjenning av et produkt som allerede er i bruk. Oppdragsgiver for de risikovurderingene vi er Mattilsynet, og ofte har de konkrete spørsmål som de ønsker at faggruppen skal behandle.

Faggruppen er ofte delt i to – en gruppe ser på risiko knyttet til humantoksikologi, og en gruppe fokuserer på økotoksikologiske aspekter av plantevernmidler. Min rolle er knyttet til den

sistnevnte gruppen. Vi vurderer derfor iboende egenskaper som for eksempel nedbrytbarhet, men jobber også med hvilke økotoksikologiske virkninger har.

For meg har denne rollen økt forståelsen for risikovurdering i praksis, og det har vært lærerikt å være med på diskusjoner også knyttet til humantoksikologiske problemstillinger.

6. I fritiden din, ved siden av jobb, verv, familiære plikter etc - hva er interessene dine? Eller heller, hva gjør du?

Jeg er opptatt av å holde meg i form, for meg er det spesielt viktig siden jeg har astma. I sommersesongen sykler jeg derfor til/fra jobb nesten hver dag. I vintersesongen dropper jeg syklingen, og går mye på ski. For to år siden kjøpte vi en liten leilighet på Beitostølen for å utvide vintersesongen. Ellers er det utrolig fint på Beitostølen hele året, så leiligheten brukes mye. Hvis det er mer tid til overs er jeg glad i håndarbeid, og syr noen ganger klær til eget bruk. Det siste har det ikke blitt mye tid til det siste året.

7. Hvilke aktuelle forskningsprosjekter arbeider du med i dag og hvilke drømmer du om å arbeide med i fremtiden?

De siste årene har vi jobbet mye på et forskningsprosjekt som ser på problemstillinger knyttet til avrenning fra veg og vaskevann fra tunneler. Det har også vært to masterprosjekter som er i slutfasen nå ved UiO, som har vært knyttet til prosjektet. Det som er spennende er at vi har sett på mange aspekter, fra

økotoksikologi (*in vitro* effekter, på alger og på fisk), kjemiske problemstillinger (forekomst av ulike forbindelser og avansert kjemiske analyser for å finne hvilke komponenter som finnes) til mer praktiske problemstillinger (øker biotilgjengeligheten av organiske stoffer dersom det brukes såpe ved vasking av tunnelen?).

Jeg kunne godt tenke meg å få et prosjekt som er støttet av forskningsrådet. Vi søkte i fjor om støtte til et prosjekt som ser på opptak og effekter av miljøgifter i bunnen av næringskjeden, dvs. planter/alger. Her har vi

utviklet en spennende modell ved NIVA der vi kan se på opptaket av miljøgifter intracellulært. Dessverre fikk vi ikke støtte i fjor, så vi kommer til å prøve å få til et slikt prosjekt når forskningsrådet har en utlysning som passer denne problemstillingen.

8. Til slutt, hvem vil du sende intervju-stafettspinnen videre til?

Jeg sender stafettspinnen videre til Johan Øvrevik fra FHI. Han vant publikasjonsprisen på vintermøtet.

Forgiftning av hunder med nervegift fra muggsopp

Gunnar Sundstøl Eriksen

Seksjon for kjemi og toksikologi, Veterinærinstituttet, Oslo

Veterinærinstituttet har ved flere tilfeller blitt kontaktet av enten hundeeiere eller veterinærer som har fått inn hunder med klassiske symptomer på nerveforgiftninger. Symptomene inkluderer skjelvinger i hele kroppen, ustøhet og manglende koordinasjon oppkast, nystagmus (ufrivillige øyebevegelser), økt spyttsekresjon og forhøyet hjertefrekvens. I alvorlige tilfeller går skjelvingene over i alvorlige muskelkramper som kan minne om epileptiske anfall. Ved flere av forgiftningstilfellene har symptomene tilsynelatende vært over, men kommet tilbake etter ytre stimuli som lyd eller endringer i lys. I noen tilfeller har det vært mistanke om forgiftning med plantevernmidler. I flere tilfeller av alvorlige forgiftninger har det vist seg at behandling med diazepam som er vanlig brukt mot kramper ikke er tilstrekkelig til å stoppe krampene over tid.

Til dels store mengder av muggsoppen *Penicillium crustosum* ble påvist i fôrrester, oppkast og mageinnhold fra avlivede hunder. Dette er en art som er vist på kunne produsere en lang rekke bioaktive forbindelser og to spesielt to av dem, roquefortine C og penitrem A har blitt satt i sammenheng med forgiftninger hos hunder tidligere. I tillegg er det påvist at

soppen produserer flere andre penitremer og de analoge thomitremene.

Soppen og toksinproduksjon

Penicillium crustosum er en sopp som kan vokse på veldig mange ulike substrater og er påvist i alle deler av verden. Arten vokser vanligvis best på substrat med høyt innhold av fett og proteiner, men er også isolert fra is i arktiske områder. Tidligere undersøkelser av matavfall i Norge har vist at denne soppen kan forekomme i høye mengder. Mattilsynet innførte derfor restriksjoner på bruk av innsamlet matavfall til bruk i fôrproduksjon.

Penicillium crustosum er i stand til å produsere mange ulike toksiske sekundære metabolitter. For å studere betydningen av de ulike mykotoksinene som produseres av denne arten, ble det flere penitremer og thomitremer rensset opp fra soppkulturene. Rene toksiner ble gitt mus oralt og dosene som skulle til for å gi skjelvinger hos mus ble sammenlignet. Forsøkene viste tydelig at det er penitrem som er det mest potente til å frambringe skjelvinger. Det er også penitrem A av penitremer og thomitremer som forekommer i de høyeste mengdene i matavfall og i kulturer med *P. crustosum*. Tidligere ble metabolitten roquefortine C ansett for å kunne gi skjelvinger



Kultur av soppen, *P. crustosum*.
Foto: Ellen Christensen, Veterinærinstituttet.

hos hund som spiste muggent matavfall eller muggent fôr. Det er imidlertid kun publisert en studie der man har sett på effekten av rent roquefortine C. Den viste at høye konsentrasjoner av roquefortine C snarere hadde paralytisk effekt i mus enn krampeframkallende. Alle rapporterte studier av metabolittprofilen av denne muggsopparten viser at roquefortine C aldri finnes alene, men sammen med blant annet en rad thomitremer og penitremer. Det er derfor sannsynlig at det også i de tilfellene av forgiftning med hund som er rapportert å være forårsaket av roquefortine C er penitremer som var årsaken. Siden roquefortine C produseres i høyere konsentrasjoner og kan være lettere å påvise er det mulig å bruke denne som en indikator på at har vært *Penicillium crustosum* tilstede.

Forekomst av forgiftninger

Veterinærinstituttet har i løpet av noen år fått inn prøver fra 20-30 hunder som med stor sannsynlighet er forgiftet med penitrem. Dette til tross for at det ikke vært noen systematisk

innsamling av materiale for å kartlegge forekomsten av slike forgiftninger. Vi mistenker at muligheten for forgiftning med penitrem A fortsatt er lite kjent for veterinærer og hundeeiere. Vi har ved flere tilfeller hørt om hundeeiere som har vært i kontakt med flere veterinærer uten å få noen diagnose eller at de har hatt noen mistanke om muggsoppforgiftning. VI mistenker derfor at forgiftning av hunder med nervegiften penitrem A fra muggsopp er mer utbredt enn vi kjenner til.

Kilder

Soppen *Penicillium crustosum* kan som nevnt vokse på veldig mye ulikt materiale. Det er derfor mange mulige mat eller fôrvarer som kan gi forgiftning. I flere tilfeller har hundene vært ute på egenhånd en stund og så har symptomer på forgiftning, så som skjelvinger fråde etc blitt observert en stund etter at hundene er kommet tilbake. Det har da ikke vært mulig å identifisere kilden til toksinene. I andre tilfeller har det vært mulig å identifisere kilden til penitrem A. De forgiftede hundene har fått i seg penitrem A fra inntak av muggent hundefôr, matavfall, kompost og nedfallsfrukt. Spesielt ser det ut som nedfallsfrukt har forårsaket mange av de observerte forgiftningene. Hundeeiere bør derfor være spesielt oppmerksomme på at hunder ikke bør få i seg muggen nedfallsfrukt.

Mekanismer

Penitrem A er påvist å kunne inhibere Ca^{2+} -aktiverede K^+ (BK-kanaler). I CNS finnes slike ionekanaler hovedsakelig presynaptisk, og det

ble antatt av en presynaptisk inhibering av disse kanalene førte til endret produksjon av neurotransmittorer og nedsatt hjerneaktivitet. Både nedsatt produksjon av neurotransmittorer *in vitro* og nedsatt EEG aktivitet i hjernen i mus eksponert for penitrem er rapportert. Senere studier har imidlertid vist at penitrem A også virker som en modulator av postsynaptisk GABA_a reseptor og at effekten var ulik i ulike deler av hjernen. Det ser ut som både effektene på ionekanalene og på GABA reseptorene er involvert i forgiftningene.

Diagnose

Mistanke om penitremforgiftning stilles på grunnlag av observerte symptomer som er klassiske tegn på nerveforgiftning som skjelvinger, spasmer, kramper, fråde, nystagmus, etc. Hundene viser også tegn på overfølsomhet for eksterne stimuli som lys og lyd. Symptomene kan i flere tilfeller vært tilbakevendende slik at hunder som er blitt sendt hjem fra veterinær i flere tilfeller er kommet tilbake etter noen timer da symptomene har kommet tilbake. Symptomene kan da også være kraftigere enn de opprinnelig var.

Prøver av fôr og mageinnhold kan evt undersøkes for forekomst av muggsoppen på Veterinærinstituttet. Videre kan penitrem A og roquefortine C påvises i prøver av fôr, mageinnhold, organer fra døde/avlivede hunder og fra blod.

Prognoser

De aller fleste av hundene vi kjenner til som sannsynligvis er forgiftet med penitrem blir helt fra igjen. Noen hunder har hatt så alvorlige kramper at de er blitt avlivet av veterinæren. Enkelte har dødd av forgiftningen. Det er også et kjent tilfelle av varig ataksi (nedsatt koordinasjon).

Hva med mennesker?

I litteraturen er det bare noen få tilfeller av mistenkte humane forgiftninger med penitrem A, ingen med dødelig utgang. I ett tilfelle ble en mann uvel en stund etter å ha drukket en boks øl. Han fikk skjelvinger over hele kroppen. Det ble rapportert at håndskriften var normal og leselig igjen 3 dager etter inntaket av øl. Nærmere undersøkelser av ølboksen viste at det var en betydelig vekst av *Penicillium crustosum* i boksen. Det ble ikke foretatt kjemiske analyser, men alle undersøkte kulturer av *P. crustosum* kan produsere penitrem A og roquefortine C.

I et annet tilfelle ble et eldre ektepar lagt inn på sykehus med alvorlige muskelskjelvinger og kramper etter å ha spist en boks med hermetisk suppe. mat. Begge følte seg uvel og hadde alvorlige skjelvinger over hele kroppen. Ekteparet ble utskrevet fra sykehuset etter 2 dager med bare milde skjelvinger og de var symptomfrie ved kontroll 2 uker etter forgiftningen. Heller ikke i dette tilfelle ble det foretatt kjemiske analyser, men en svart soppkultur, identifisert som *Penicillium crustosum* ble isolert fra hermetikkboksen.

Et tredje tilfelle med mistenkt forgiftning med tremorgene mykotoksiner var en mann som arbeidet med muggen ensilasje. Han ble lagt inn på sykehus med hav som ble beskrevet som demens-lignende symptomer og muskelskjelvinger. Mange ulike arter av muggsopp som er kjent for å kunne produsere tremorgene forbindelser, både *Penicillium spp* og *Aspergillus spp*, ble isolert fra ensilasjen, men det ble ikke foretatt noen kjemiske analyser i dette tilfelle heller.

Det er antageligvis få tilfeller av akutte humane forgiftninger med penitrem da det ser ut som det må være en betydelig synlig muggvekst tilstede for at det skal være nok penitrem A tilstede. Det kan likevel ikke helt utelukkes at man kan konsumere matvarer der man ikke ser soppveksten, som for eksempel ved ødelagte hermetikkbokser med små hull i som slepper inn luft, som kan forårsake forgiftninger.

Videre lesning

1. Eriksen, G. S.; Moldes-Anaya, A.; Faeste, C. K. 2013. Penitrem A and analogues: toxicokinetics, toxicodynamics including mechanism of action and clinical significance. *World Mycotoxin Journal*. 6; 263-272.
2. Eriksen, GS,, Hultin Jäderlund, K., Moldes-Anaya, A., Schönheit, J., Bernhoft, A., Jæger, G., Rundberget, T. 2010. Poisoning of dogs with tremorgenic *Penicillium* toxins. *Medical Mycology* 48 (1) 188-196
3. Engeland, IV, Lium, E:R., Bernhoft, A. 2015. Mykotoksinforgiftning hos hund. *Norsk veterinærtidsskrift*.
4. Moldes-Anaya, AS, Fonnum, F, Eriksen, GS, Rundberget, T, Walaas, SI, Wigestrang, MB. 2011. In vitro neuropharmacological evaluation of penitrem-induced tremorgenic syndromes: Importance of the GABAergic system. *Neurochem. International*. 2011, 59, (7), 1074-1081
5. Moldes-Anaya, A, Rundberget, T. Fæste, C. Eriksen, GS and Bernhoft, A. 2012. Neurotoxicity of *Penicillium crustosum* secondary metabolites: Tremorgenic activity of orally administered penitrem A and thomitrem A and E in mice. *Toxicol* 60, 1428-1435.
6. Naude, T.W., O'Brien, O.M., Rundberget, T., McGregor, A.D., Roux, C. and Flåøyen, A., 2002. Tremorgenic neuromycotoxicosis in 2 dogs ascribed to the ingestion of penitrem A and possibly roquefortine in
7. Rundberget T., Skaar, I. and Flåøyen A., 2004b. The presence of *Penicillium* and *Penicillium* mycotoxins in food wastes. *International Journal of Food Microbiology* 90: 181-188. rice contaminated with *Penicillium crustosum*. *Journal of the South African Veterinary Association* 73: 211-215.

Analyse av proteinskader forårsaket av oksidativt stress

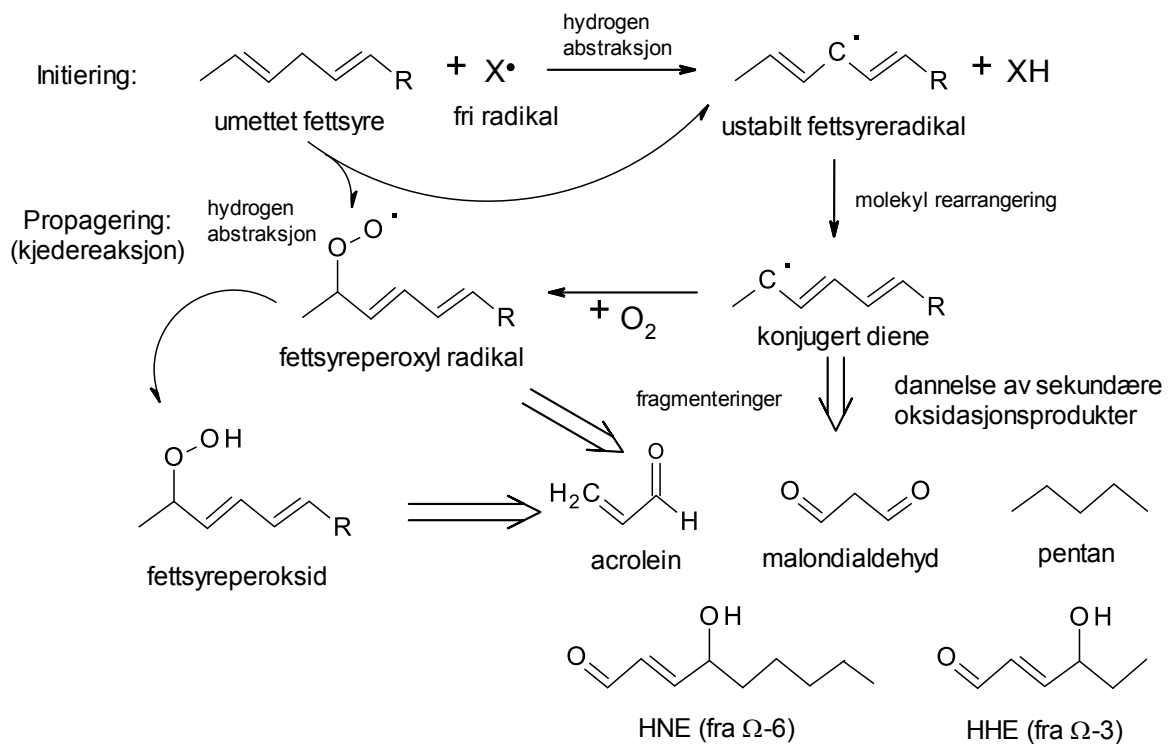
Masterstudent Trygve Danielsen, seniorforskere Birgitte Lindeman og Tim Hofer

Avdeling for kjemikalier og stråling, Divisjon for miljømedisin, Folkehelseinstituttet, Oslo

Nedsatt funksjon i celler og organer blir ofte observert i sykdommer og aldringsrelaterte tilstander som for eksempel demens og nedsatt fertilitet, og en ledende teori er at skader på molekylært nivå ligger bak. Men, hvorfra kommer alle disse skadene, hvilke blir dårlig reparert, og hvilke fører til sykdom? I denne masteroppgaven har proteinskader forårsaket av oksidativt stress blitt målt i celler og vev ved bruk av følsomme spesifikke antistoffer som gjenkjenner aldehyd-addukter som stammer fra lipidperoksidering av flerumettede fettsyrer (4-hydroksey-2-heksenal fra Ω -3; 4-hydroksynonenal fra Ω -6) samt proteinkarbyler (oksiderte aminosyrer). Celler ble dyrket i medium tilsatt arakidonsyre (AA; Ω -6), dokosaheksaensyre (DHA; Ω -3) eller palmitinsyre (mettet fettsyre) og eksponert for kumenhydroperoksid. I tillegg ble deler av testes fra mus på henholdsvis normal og fettrik diett, samt testes og hjerne fra unge og gamle mus analysert. Høyere nivåer av HNE-protein addukter ble funnet i testes fra gamle dyr. For kvantitative målinger fungerte slot blot og ELISA fint, mens immuncytokjemi er nyttig for å lokalisere HNE-addukter til spesifikke celletyper og intracellulært.

Reaktive oksygenforbindelser (ROS), som superoksid ($O_2^{\cdot-}$), hydrogenperoksid (H_2O_2), organiske peroksider (ROOH), med flere, dannes kontinuerlig i våre celler grunnet metabolisme, stråling, inflammasjon og eksponering for toksiske stoffer (et eksempel er redoksykulerende quinoner). ROS kan reagere med cellens makromolekyler og kan indusere ukontrollert lipidperoksidasjon av flerumettede fettsyrer i cellemembraner. Dette er en autokatalytisk prosess som involverer reaksjoner med oksygen hvor forskjellige sekundære oksidasjonsprodukter (akrolein, malondialdehyd, pentan, 4-hydroksey-2-heksenal (HHE) og 4-hydroksynonenal (HNE)) dannes (se Figur 1), der flere er reaktive aldehyder som kan

forårsake skader på cellens makromolekyler (proteiner, nukleinsyrer, fett). Flerumettet fett er viktige for membraners fluiditet og brukes for syntese av signalmolekyler i kroppen. Et høyt forhold Ω -3/ Ω -6 i dietten antas å være viktig for



Figur 1. Lipidperoksidasjon i cellemembraner danner mange forskjellige sekundære oksidasjonsprodukter. Figur modifisert fra Hofer 2010 (4). Noen aldehyder er spesifikke for typen umettet fett de stammer fra (5, 6). Aldehyder kan reagere med cellens makromolekyler og danne addukter. Katalytiske redokssyklende jern- og kopperioner kan drastisk øke lipidperoksidasjonshastigheten.

å minske inflammasjonsprosesser, noe som er relatert til produksjon av resolviner og eikosanoider.

Videre anses flerumettet fett å være viktig for utviklingen av hjernen. Mennesker har relativt lave nivåer flerumettet fett, dog er nivåer høyere i kjønnsceller og hjerne. Fra kortere essensielle flerumettede fettsyrer (α -linolensyre (Ω -3) og linsyre (Ω -6)) bygger våre celler opp lengre flerumettede fettsyrer.

Å måle produkter av lipidperoksidasjon kan være utfordrende ettersom reaksjons-produktene er kortlivede og også introduseres under analysene

og oppbevaring av prøver. For eksempel involverer måling av malondialdehyd med tiobarbitursyre (TBA) oppvarming av prøvene til 90 °C (45 min), noe som potensielt forårsaker falske positive (1). I denne oppgaven (2) ble isteden proteinaddukter (HHE og HNE) målt som markører for lipidperoksidasjon. I tillegg ble proteinkarbonyler (C=O) målt som mer generelle markører for proteinoksidasjoner og aldehydaddukter (3).

Oppgaven har hatt tre hovedproblemstillinger:

Problemstilling 1

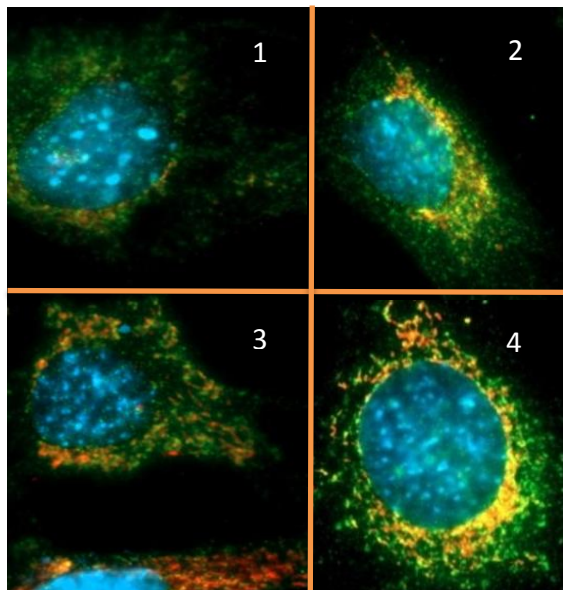
Ved bruk av cellekultur, hvordan påvirkes lipidperoksidasjons-hastigheten i cellemembraner av flerumettede fettsyrer som dokosaheksaensyre (DHA; Ω -3) og AA, arakidonsyre (AA; Ω -6) sammenlignet med mettet fett (PA)? Og, dannes høyere nivåer av HHE- og HNE-proteinaddukter i cellene under induisert lipidperoksidasjon ved bruk av kumen-hydroperoksid (cumOOH) ved supplering av DHA eller AA?

Indirekte måling av lipidperoksidasjons-hastigheten i levende cellers membraner kan måles med den lipofile fluorescerende oksidasjonsfølsomme proben C₁₁-BODIPY og kombinert med stressoren kumen-hydroperoksid gir metoden et mål på cellenes antioksidantkapasitet. Ved oksidering av reporter-molekylet kan grønt lys eksiteres; dette lyset måles ved fluorescensavlesning.

Kultiverte testisceller (Ntera-2 cl.D1) ble tilsatt tre ulike konsentrasjoner av de tre fettsyrene palmitinsyre (PA), DHA og AA (25 μ M, 50 μ M og 100 μ M) under 24 timer ved 37°C i 96-brønners brett. Deretter ble cellene stresset med kumenhydroperoksid og lipidperoksidasjonshastigheten ble målt over en periode på 30 minutter. For hver gruppe ble det beregnet stigningstall. Resultatene viste at DHA var effektiv i alle tre konsentrasjoner og bremsset ned lipidperoksidasjonshastigheten (stigningstallet) sammenliknet med kontrollen,

som ikke hadde blitt tilsatt noen fettsyrer. AA hadde også lavere stigningstall sammenliknet med kontrollen, men kun i de to høyeste konsentrasjonene. Et mer uventet resultat var at palmitinsyre var effektiv i den høyeste konsentrasjonen. Disse forsøkene tyder på at fettsyrer, og spesielt DHA lar seg oksidere av cumOOH og dermed bremser ned oksidasjonen av C₁₁-BODIPY ved å fungere som antioksidanter. Til tross for dette, kan oksidasjon av fettsyrer føre til produksjon av HNE og HHE og dermed cellulære skader.

For å undersøke om supplering av AA (Ω -6) fører til økte HNE adduktnivåer ble fibroblaster i kultur eksponert for ulike konsentrasjoner av AA og deretter inkubert i 24 timer ved 37°C. Cellene ble deretter eksponert for cumOOH i 30 minutter. Immunocytokjemi ble gjort for å undersøke hvor HNE-adduktene er lokalisert (Figur 2), mens en slot-blot analyse ble gjort for kvantifisering av HNE-adduktene. Bildene fra immunocytokjemi viser at HNE-adduktene er lokalisert sammen med mitokondrier, noe som også støttes av litteraturen. Overaskende nok viste kvantitative analyser med slot-blot ingen økning av HNE-addukter når cellene ble supplert med AA og eksponert for cumOOH. Dette kan muligens skyldes cellenes detoksifiseringskapasitet.



Figur 2: Immunocytochemisk farging for histidine-HNE proteinmodifiseringer.

Celler ble dyrket i 24 timer uten eller med 50 μM AA i 24 timer og deretter behandlet med enten ingenting eller 50 μM cumOOH i 30 minutter. 1) Kontroll uten behandling. 2) Behandlet med 50 μM cumOOH. 3) Behandlet med 50 μM AA 4) Behandlet med 50 μM AA + 50 μM cumOOH. Grønt = HNE-antistoff, rødt = mitokondriefarging, blått = kjernefarging. Gul farging viser kolokalisasjon mellom mitokondrier og HNE-addukter (grønt + rødt). Bildene er tatt av Trygve Danielsen med et 63x objektiv.

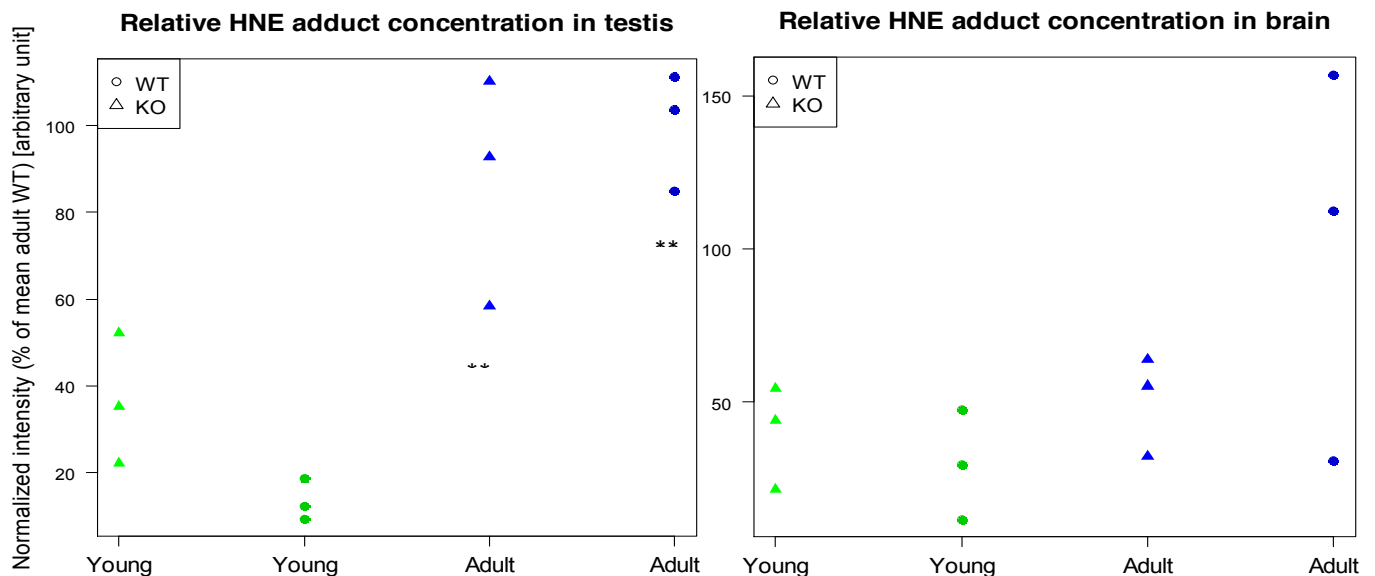
Problemstilling 2

Overvekt og fedme er assosiert med redusert spermkvalitet. En hypotese er at mild kronisk inflammasjon og økt oksidativt stress som er assosiert med overvekt påvirker spermkvaliteten. I en musemodell for diettindusert overvekt og fedme undersøkte vi om en fettrik diett er assosiert med et endret nivå av oksidativt stress i testis og blod (manuskript under utarbeidelse). I musemodellen har vi undersøkt effekter av en moderat fettrik diett (45% kcal fra fett) over en relativt kort periode (6 uker) som ikke forårsaker metabolske sykdommer som diabetes som i seg selv er assosiert med oksidativt stress. Tidligere forsøk har vist at dyrene har redusert spermkvalitet (7). Nivået av proteinkarbyler ble målt i plasma og i væske isolert fra bitestikkelen, mens nivået av HNE-addukter ble målt i testikkelvev. Resultatene indikerer overraskende et lavere nivå av de oksiderte

proteinmarkørene i plasma og i testis ved fettrik diett, mens det ikke var noen endring i bitestikkelen. En mulig forklaring på disse resultatene er at dyrene har en fungerende kompensasjon for økning i ROS i denne fasen av overvekts-utviklingen. Denne hypotesen blir nå undersøkt nærmere.

Problemstilling 3

Kortlevde dyr som mus har ofte høyere nivåer av flerumettet fett i organer (og sannsynligvis spesielt i mitokondrier) enn langlivede dyr som mennesker, noe som blitt fokus i «the membrane pacemaker hypothesis of aging» som baserer seg på endogen lipid-peroksidasjon og dermed dannelse av reaktive metabolitter som HNE og HHE (8). Å endre nivåer av flerumettet fett i organer gjennom å endre på innholdet i kosten virker vanskelig (9), slik at nivåer av flerumettet fett i organer er sterkt regulert av organismen. Fra hypotesen er det mulig at HHE- og HNE-protein addukter øker i organer med økt alder, og at organer med høye nivåer av flerumettet fett er spesielt utsatt for



Figur 3: Slot blot-analyse av HNE-protein addukter i homogenisert testes (venstre) og hjerne (høyre) fra unge (2-3 måneder) og eldre (24-27 måneder) C57BL/6J WT og KO hannmus. $p < 0.01$ med Tukey's post-hoc test mot unge dyr.**

akkumulering av oksidativ skade, noe som her ble sjekket i hjerne og testes fra unge og gamle mus.

Ved sammenligning mellom ett mindre antall unge (2-3 måneder) og eldre (24-27 måneder) mus (C57BL/6J villtype (WT) og C57BL/6J $Ogg1^{-/-}$ knock-out (KO) (10)) ble høyere HNE-protein adduktnivåer funnet i testes fra gamle dyr (toveis ANOVA ga $p < 0.01$ for alder) brukende slot blot analyse basert på antistoffer, se Figur 3. For hjerne var nivåer noe høyere i eldre dyr, dog var effekten var ikke signifikant (toveis ANOVA ga $p = 0.08$ for alder). $Ogg1^{-/-}$ knock-out mus har nedsatt evne å reparere oksidative DNA-skader, noe som sannsynligvis ikke er relatert til protein addukter: toveis ANOVA viste heller ikke noen effekt for gen-type av mus (testis: $p = 0.23$; hjerne: $p = 0.36$). Resultater er spennende og

det er planlagt å ekspandere forsøk med inkludering av flere dyr, samt HNE analyser.

Trygve Danielsen presenterte flere av resultater ved HNE Club møtet i Toulouse, Frankrike, høsten 2014.

Referanser

- 1) Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N (2005) A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 15, 316-328.
- 2) Danielsen T (2015) Protein markers of oxidative stress: Applications to experimental research and effects of fatty acids. Master thesis at Oslo Universitet.
- 3) Sayre LM, Lin D, Yuan Q, Zhu X, Tang X (2006) Protein adducts generated from products of lipid

oxidation: focus on HNE and ONE. *Drug Metab Rev*, 38, 651-675.

4) Hofer T, Olsen RL (2010) Cellebasert metode for måling av lipidperoksidasjon og antioksidantaktivitet. *Bioingeniøren* 10, 6-12.

5) Benedetti A, Comporti M, Esterbauer H (1980) Identification of 4-hydroxynonenal as a cytotoxic product originating from the peroxidation of liver microsomal lipids. *Biochim Biophys Acta*, 620, 281–296.

6) Long EK, Murphy TC, Leiphon LJ, Watt J, Morrow JD, Milne GL, Howard JRH, Picklo MJ (2008) Trans-4-hydroxy-2-hexenal is a neurotoxic product of docosahexaenoic (22:6; n-3) acid oxidation. *J Neurochem*, 105, 714-724.

7) Duale N, Steffensen I-L, Andersen J, Brevik A, Brunborg G, Lindeman B (2014) Impaired sperm chromatin integrity in obese mice. *Andrology*, 2, 234-243.

8) Hulbert AJ (2010) Metabolism and longevity: Is there a role for membrane fatty acids? *Integr Comp Biol*, 50, 808-817.

9) Valencak TG, Ruf T (2011) Feeding into old age: long-term effects of dietary fatty acid supplementation on tissue composition and life span in mice. *J Comp Physiol B*, 181, 289-298.

10) Graupner A, Instanes C, Andersen JM, Brandt-Kjelsen A, Dertinger SD, Salbu B, Brunborg G, Olsen A-K (2014) Genotoxic effects of two-generational selenium deficiency in mouse somatic and testicular cells. *Mutagenesis* 10.1093/mutage/geu059.

-OMIKS i miljøforskningen: Eksposom og eksposomikk

Aage Haugen, Forskningssjef/professor

Avdeling for Kjemisk og Biologisk Arbeidsmiljø, Statens arbeidsmiljøinstitutt, Oslo

For å forstå årsakene til sykdom, og forebygge sykdom, er det nødvendig å kartlegge de yrkes- og miljømessige årsakene i vid forstand. Hvorfor utvikler noen mennesker kreft, astma, diabetes, hjerte-kar sykdommer, eller Parkinson sykdom? Det er ikke mulig å gi et klart svar på dette. Svaret koker ofte ned til samspillet mellom vårt arvestoff DNA, vår livsstil og ulike miljøpåvirkninger vi blir eksponert for.

Hva vi gjør, hva vi spiser, hva vi utsettes for av miljø- og yrkesmessige eksponeringer etterlater målbare spor i kroppen vår.

Det er ikke mulig å etablere solide sammenhenger mellom eksponering og sykdom basert utlukkende på eksponeringsmålinger og spørreskjema. En ny tilnærming må til på linje med den molekylære utviklingen innen biologi og medisin.

Hva er eksposom?

Vårt arvestoff DNA utgjør vårt genom. Hele det menneskelige genom ble kartlagt i 2001 og man er nå i ferd med å studere dens spesifikke funksjonalitet.

Som et motstykke til det humane genom, ble konseptet *Eksposome* foreslått av Chris Wild i 2005. Ønsket var å komplettere all informasjonen man hadde om genomet med eksposomet, dvs integrere det med en mer detaljert karakterisering av livstidseksponeringer.

Eksposomet omfatter det samlede sett av ikke-genetiske determinanter som påvirker vår helse.

I motsetning til genomet så er eksposomet dynamisk og forandrer seg over tid. Det setter fokuset på menneskets helse og er en sammenstilling av sykdommer og ens eksponeringer gjennom livet.

Det referer til den totale eksponering som en person utsettes for fra unnfangelse til død og er en ny tilnærming til å kunne studere betydningen av yrkesmessig- og ytre miljøeksponeringer ved sykdomsutvikling.

Begrepet *Eksposomikk* omfatter studier av eksponeringsdata (eksposom). Konseptet omfatter miljø- og yrkesmessig eksponering, livsstilsfaktorer, klima og sosiale faktorer, men også biologiske prosesser i menneskekroppen som normal metabolisme. Likeså inngår mikroflora, inflammasjon, oksidativt stress og infeksjoner. Eksposomet er relatert til biologi, det vil si prosesser som metabolomikk, lipidomikk, transkriptomikk, proteomikk (se figur). Funksjonell genomikk er på en måte inngangsporten til de andre -omikk-områdene. Ved hjelp av ulike omikk-metoder knyttes

eksposom-data til biokjemiske og molekylære endringer i menneskekroppen.

Finner man eksempelvis en faktor i eksposomet som forårsaker en bestemt sykdom kan man intervensere. Et eksempel på dette er befolkningen i Finland på 1970-tallet som generelt sett hadde et meget høyt kolesterolnivå og høy insidens av hjerte-kar sykdommer. På råd fra forskere og helsepersonell ble det såkalte Nord-Karelia prosjektet påbegynt for å redusere inntaket av fet mat blant innbyggerne. Dette resulterte i at mortaliteten i området gikk ned 70 prosent i løpet av 25 år. Dette er et godt eksempel på at gjennom å identifisere risikofaktorer, for deretter å gjennomføre relevante tiltak blant befolkningen, vil dette sammen kunne redusere risiko for sykdom.

Hva med yrkesmessige eksponeringer?

Virkingen av miljø- og yrkesmessig eksponeringer kan utarte seg forskjellig for den enkelte på grunn av forskjeller i genetiske bakgrunn eller på grunn av andre individfaktorer. Enkelte vil utvikle en sykdom mens andre med samme eller større eksponering ikke rammes av sykdom. Det eksposomet kan bidra til, er en økt forståelse av de underliggende årsakene til denne forskjellen. For selv om genomet er sekvensert har man klart å forstå bare en liten del av forskjellene i sykkelighet.

Selve kartlegging av hele eksposomet til et individ er ikke lett å gjennomføre. Dette på grunn av kompleksiteten som ligger til grunn for de ulike eksponeringene man utsettes for i løpet av en mannsalder. Forskerne mente det samme

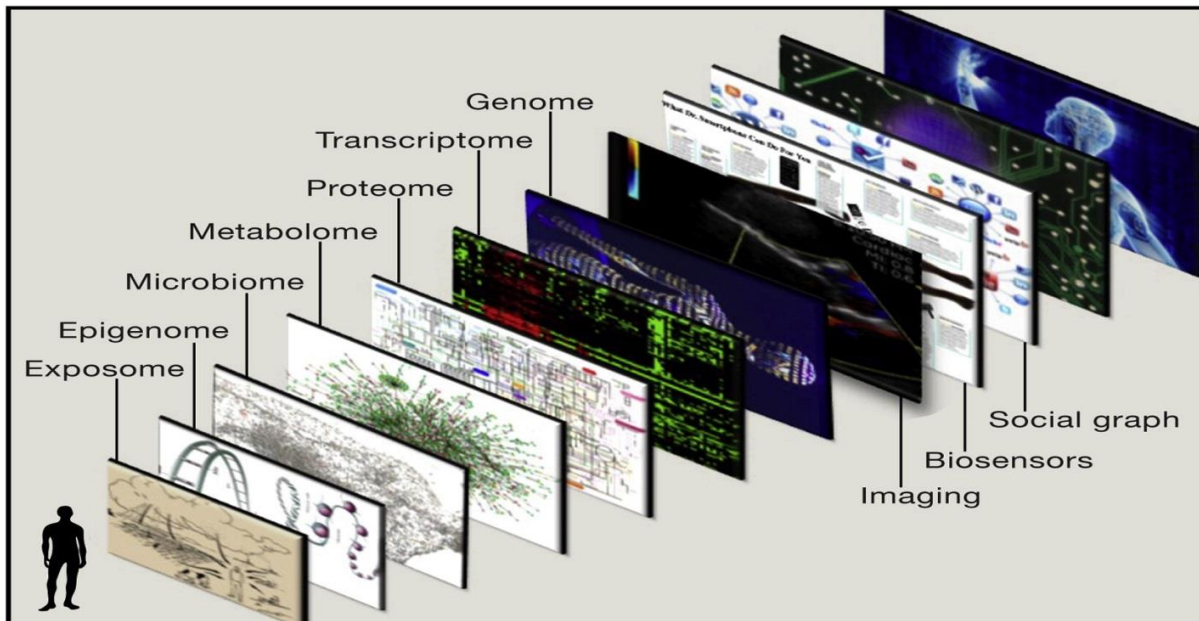
for 20 år siden når det gjaldt genomet. I dag kan hvem som helst få kunnskap om sine gener innen noen dager.

Spesifikke eksponeringer kan være vanskelig å måle på grunn av at man mangler sensitive metoder, eller det kan rett og slett være at man ikke vet at en eksponering har forekommet. Selv når eksponeringen er kjent, kan en eksponeringskartlegging være krevende siden indikatorene på eksponering kan være forbigående. Slik det er for de fleste kjemikalier som raskt utskilles og kun eksisterer i et kortere tidsrom i menneskekroppen. I andre tilfeller kan imidlertid tidligere eksponeringer defineres ved hjelp av kjente biomarkører.

Et fokus på eksposomet i en yrkesmessig sammenheng vil på sikt sammen med utviklingen innen omiks-feltet gi en mulighet til bedre å forstå relasjonene mellom yrkesmessig eksponering og arbeidsrelaterte sykdommer. Men for at dette skal skje må det parallelt utvikles nye og bedre analytiske metoder, forbedringer innen prøvetaking, samt utvikles nye validerte biomarkører.

Mer komplett eksponeringsdata

Selve tanken på konseptet *eksposom* kan anspore oss til å utvikle bedre og mer komplette eksponeringsdata som kan benyttes i molekylær - epidemiologiske studier. En slik tilnærming vil bidra til å fremme vår forståelse av hvordan miljø- og yrkesmessig eksponeringer for toksiske stoffer påvirker risikoen for å utvikle sykdom. Kartlegging av hele eksposomet til et individ virket som science fiction bare få år tilbake.



Informasjonssystemet til et menneske vist lagvis fra eksponeringsdata til biologisk respons på bakgrunn av forskjellige -omiks (DNA sekvens, transkriptom, proteom, metabolom, mikrobiom, og epigenom) videre til billedanalyse (anatomi), biosensorer (fysiologi) samt sosiale og demografiske data.

Eric J Topol, Cell 157: 241-253, 2014

Utvikling av ny teknologi er imidlertid avgjørende for at initiativet om et eksposom vil lykkes.

I dag finansieres flere store forskningsprosjekter i EU og USA innen dette feltet hvor det benyttes ulike eksponeringsovervåkingssystemer som sensorer, geo-informasjon, smart telefoner, satellitter, biomarkører samt spørreskjema til å samle inn data på eksponering fra enkeltpersoner. I tillegg benyttes data fra globale profiler av molekylære funksjoner målt med hjelp av -omikk-teknologi fra de samme personene.

Helsemessige konsekvenser av eksponering

Mange utsettes daglig for helseskadelige stoffer på arbeidsplassen og fra omgivelsene. Det er ofte komplisert å vurdere de helsemessige konsekvensene av disse eksponeringene. Nye tilnærminger er nødvendig på linje med den molekylære revolusjonen inn biomedisinen de senere årene. Flere internasjonale prosjekter er på gang hvor man gjør bruk av ny teknologi som tillater måling av personlig eksponering for miljøgifter med mye større følsomhet.

Det endelige målet er å benytte omikk-teknologien i toksikologiske risikovurderinger på bakgrunn av data fra metabolomikk (molekyler

som er involvert i metabolisme), adduktomikk (forbindelser som binder seg til DNA og serum albumin), transkriptomikk (mengden av alle RNA molekylene, inkludert mRNA, rRNA, tRNA, og annen ikke-kodende RNA), proteomikk (hele settet av proteiner som dannes eller modifiseres

av organismen) og epigenomikk (komplett sett av epigenetiske modifikasjoner på det genetiske materiale DNA).

Helsen sitter ikke i våre gener men hvordan genen samvirker med våre omgivelser.

1 redaksjonen:

Mariell Negård (redaktør)

Mariell.Negard@stami.no

Malene Vågen Dimmen

mvd_88@hotmail.com

Marte Melnes

martemelnes@gmail.com

Elise Skottene

elisesk@stud.ntnu.no

Styret

Toksikologiseksjonen:

Leder:

Shanbeh Zienolddiny

Shan.Zienolddiny@stami.no

Styremedlemmer:

Trond Brattelid

Jan Ludvig Lyche

Sara Leeves

Tim Hofer

Gry Koller

Gunnar Sundstøl Eriksen

Varamedlemmer:

Odd Andre Karlsen

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 beskjeftiget 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