


Bioassay som metode for å undersøke forekomsten av legemidler i avløpsvann



Ingrid Beate Øpstad Fredriksen

Universitetet i Bergen

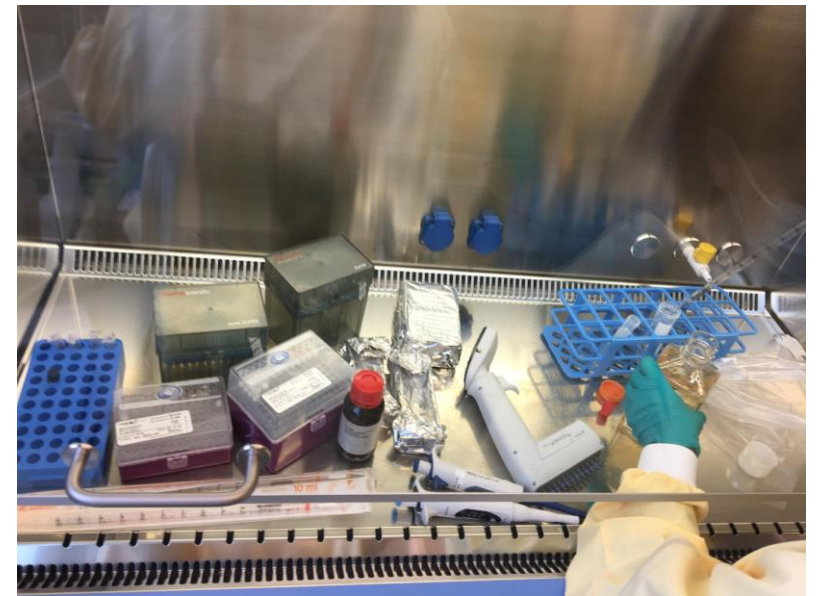
Miljøringens studentstipend 2020

Innhold

- Hvorfor bry seg om legemidler?
- Hvorfor ikke bare gjøre kjemiske analyser?
- Kort om hvordan jeg har jobbet
- Mine resultater
- Betydningen av disse resultatene



Bilde: Gunn Eklund Breisnes



Bilde: Kristianne Hjorth Viken

Hvorfor?

- Stadig høyere forbruk av legemidler
- Ender opp i avløpssystemet
- Det stoffet det er mest av som er farligst?
 - + blanding av stoffer
- PFAS: uintensjonell biologisk virkning
- Legemidler: skapt for å skape en biologisk respons
- Mennesker og fisk er ikke så ulike som man skulle tro (reseptorer)



Bilde: Polina Tankilevitch, pexels.com



Bilde: Karolina Grabowska, pexels.com



Bilde: Peter Prokosch, Grid Arendal

Reseptorer – veldig kort

- Bindingsstedet for signalmolekyler
- Hormoner → respons
- Legemidler
 - Intensjon
 - Ikke intensjon
- Miljøgifter



Miljøperspektiv

Reproduksjon:

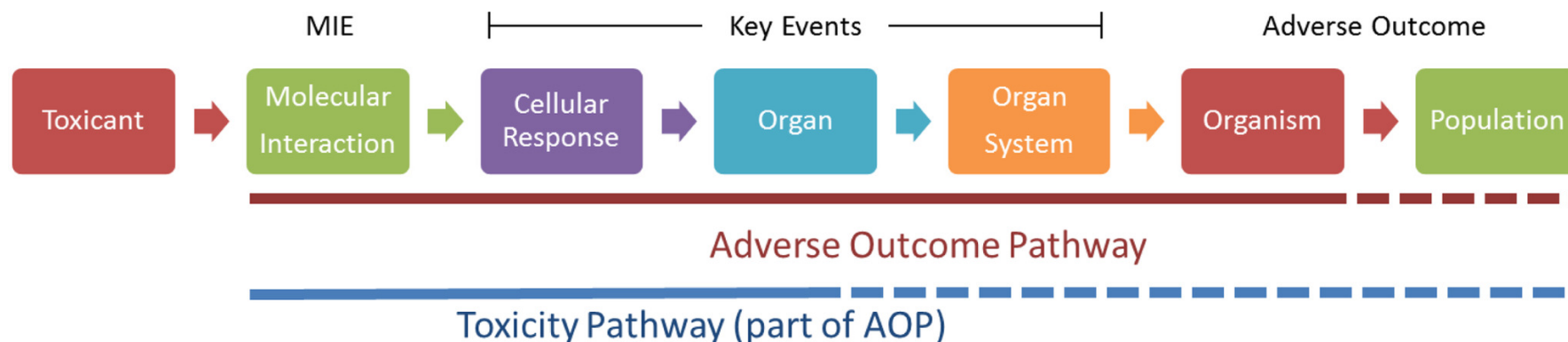
- Testosteron-reseptor
- Østrogen-reseptor

Ikke nødvendigvis de stoffene som opptrer i de høyeste konsentrasjonene som er de mest biologisk aktive

→ blandinger

Biotransformering av skadelige stoffer:

- PXR-reseptor



Figur fra Browne et al., 2017

Hva gjorde jeg egentlig?



Sedimenter

- Metoden skulle også vært brukt på sedimenter
- Har vært gjort før og vært vellykket



Environmental Toxicology and Pharmacology

Volume 87, October 2021, 103704



Toxicity assessment of urban marine sediments from Western Norway using a battery of stress-activated receptors and cell-based bioassays from fish

Siri Øfsthus Goksøyr ^a, Helene Sørensen ^a, Bjørn Einar Grøsvik ^b, Daniela M. Pampanin ^c, Anders Goksøyr ^a, Odd André Karlsen ^a  

[Show more](#) 

[+](#) Add to Mendeley [🔗](#) Share [🗒](#) Cite

<https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103704>

Under a Creative Commons license

[Get rights and content](#)

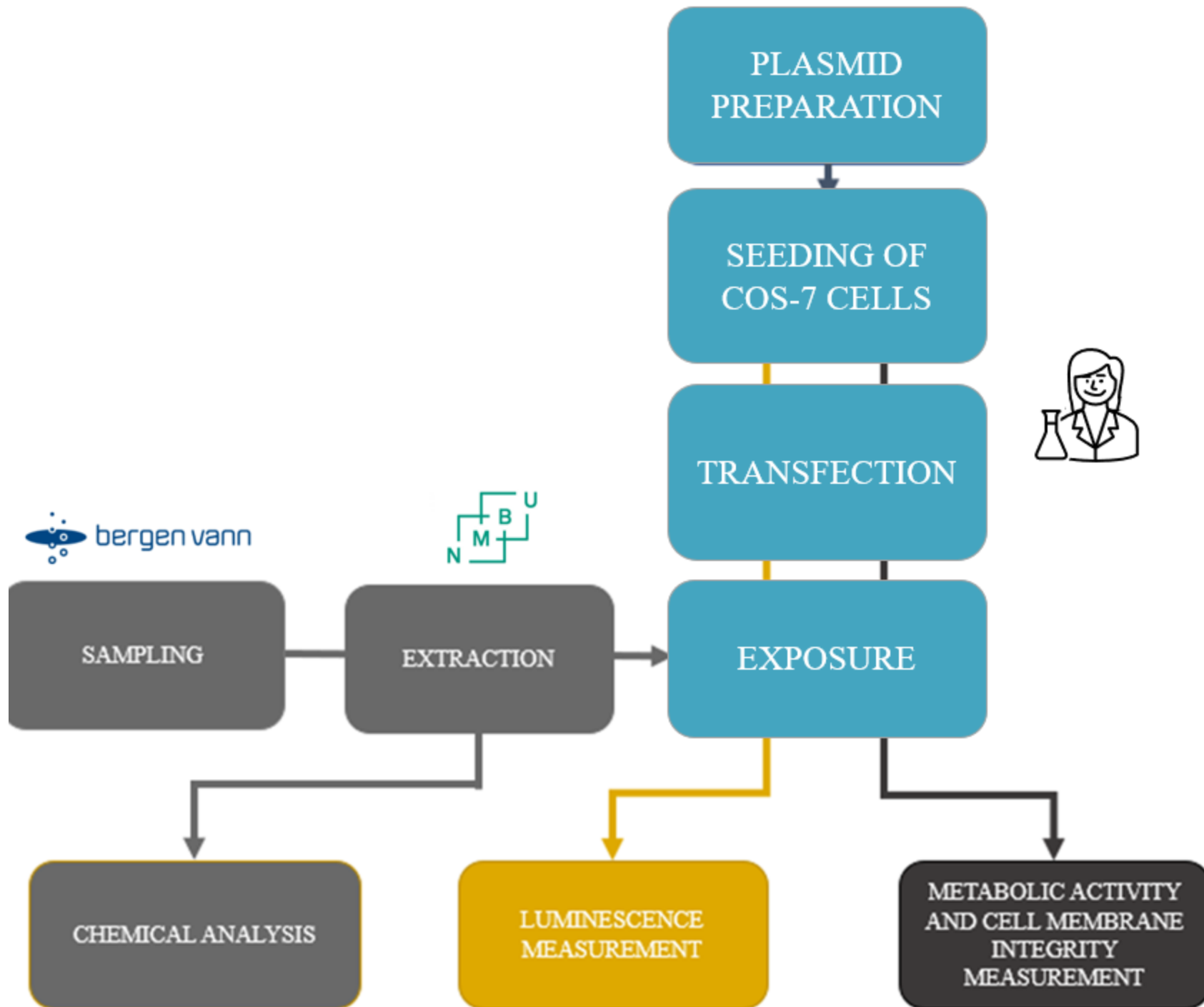
[open access](#)

Luciferase reporter-gen-assay

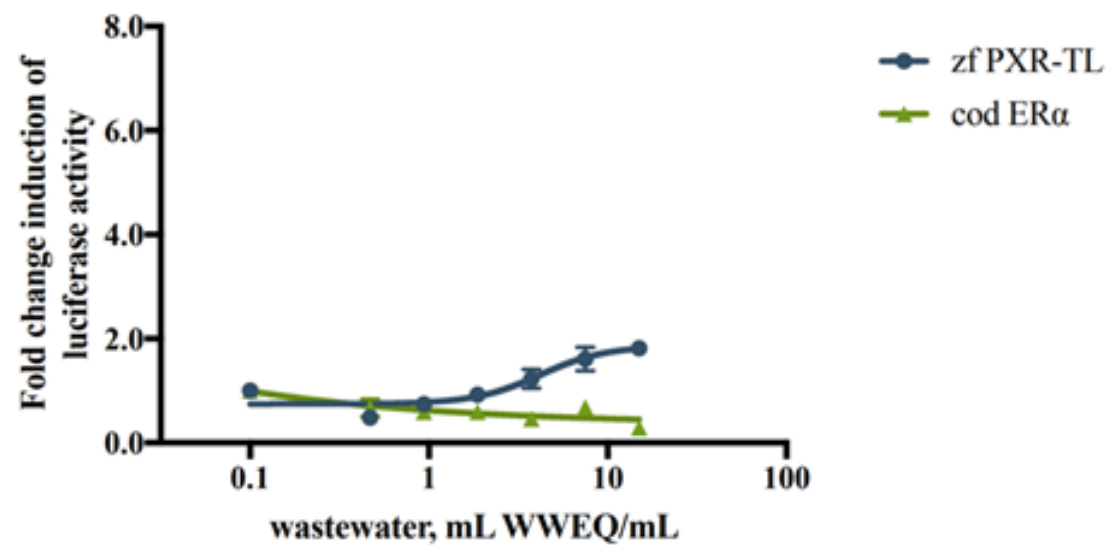
- Reseptorer som er påkoblet en «lys-bryter»
- Celler
- Eksponering av celler som inneholder disse reseptorene gir **lys** hvis de aktiveres



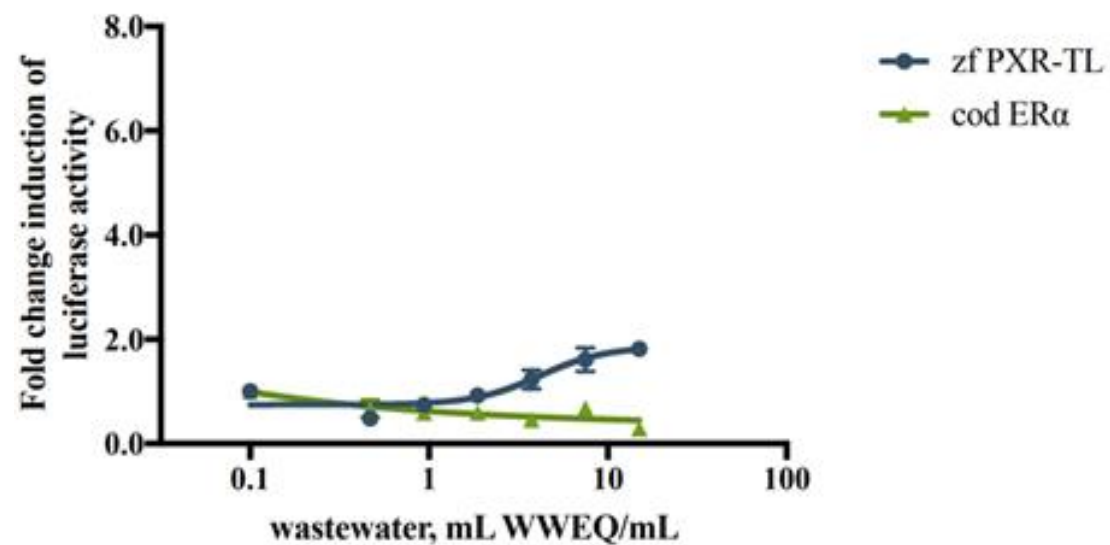




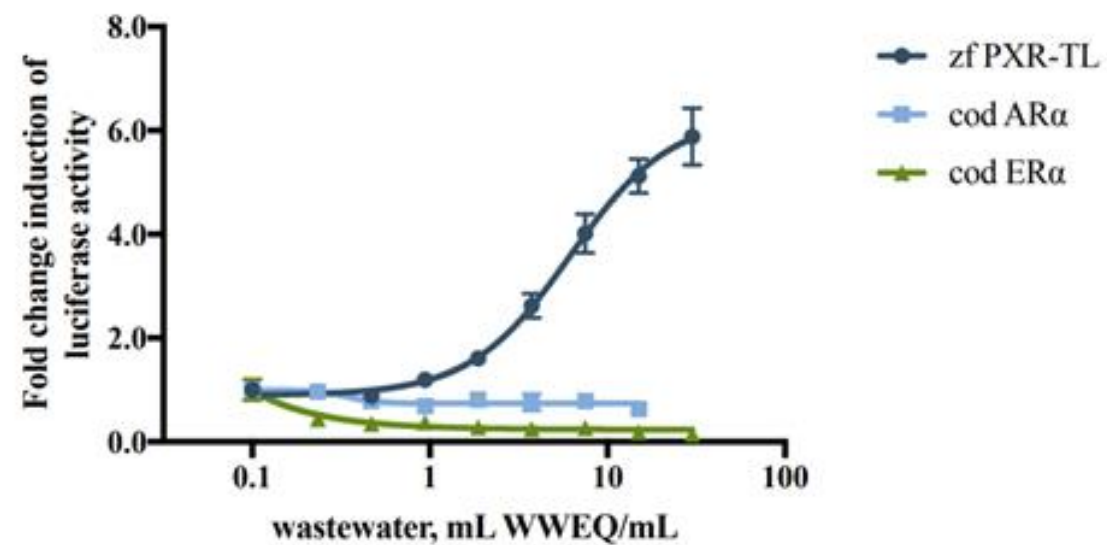
St. 1.a Kvernevik in



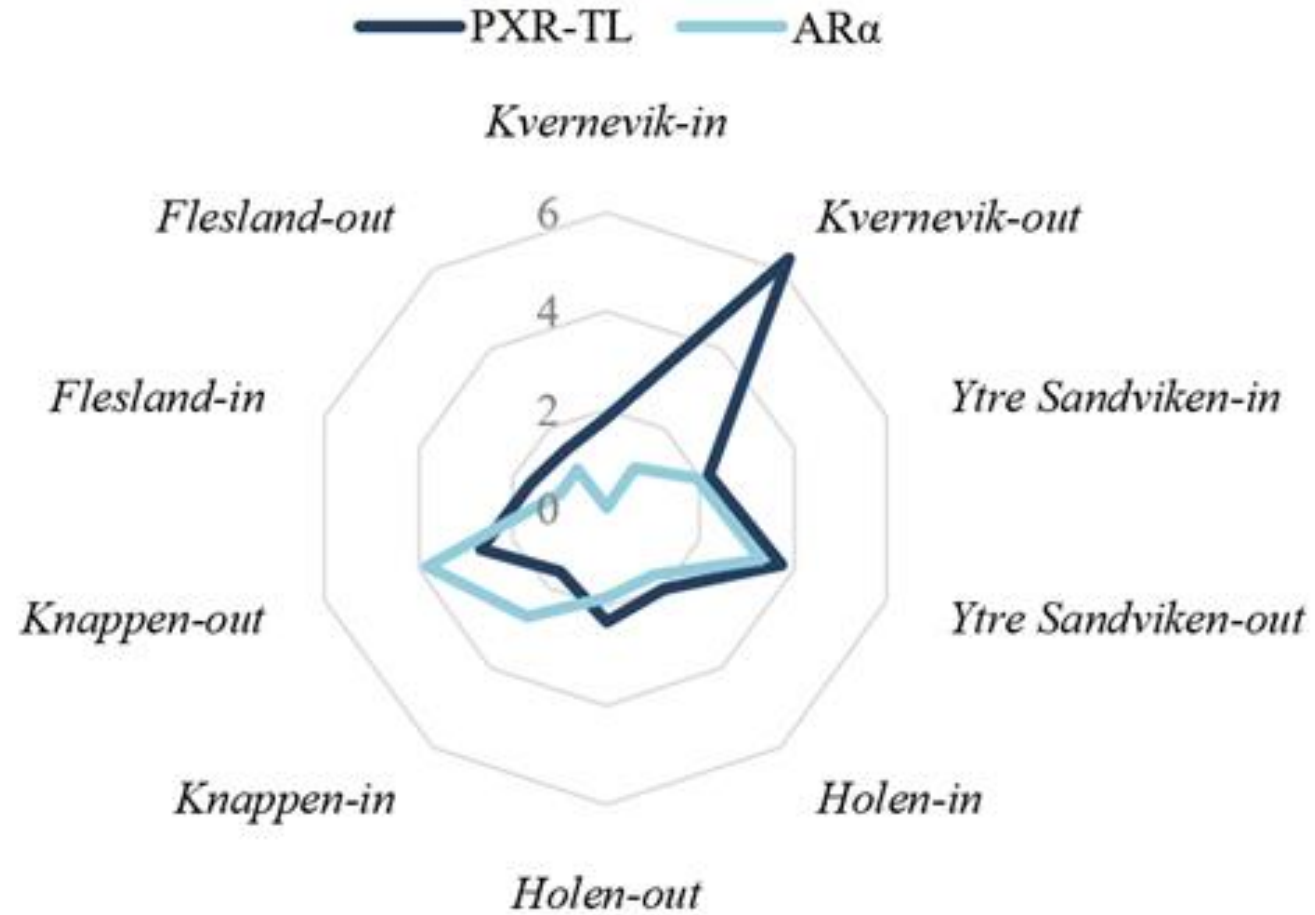
St. 1.a Kvernevik in



St. 1.b Kvernevik out



Wastewater extract activation of NRs

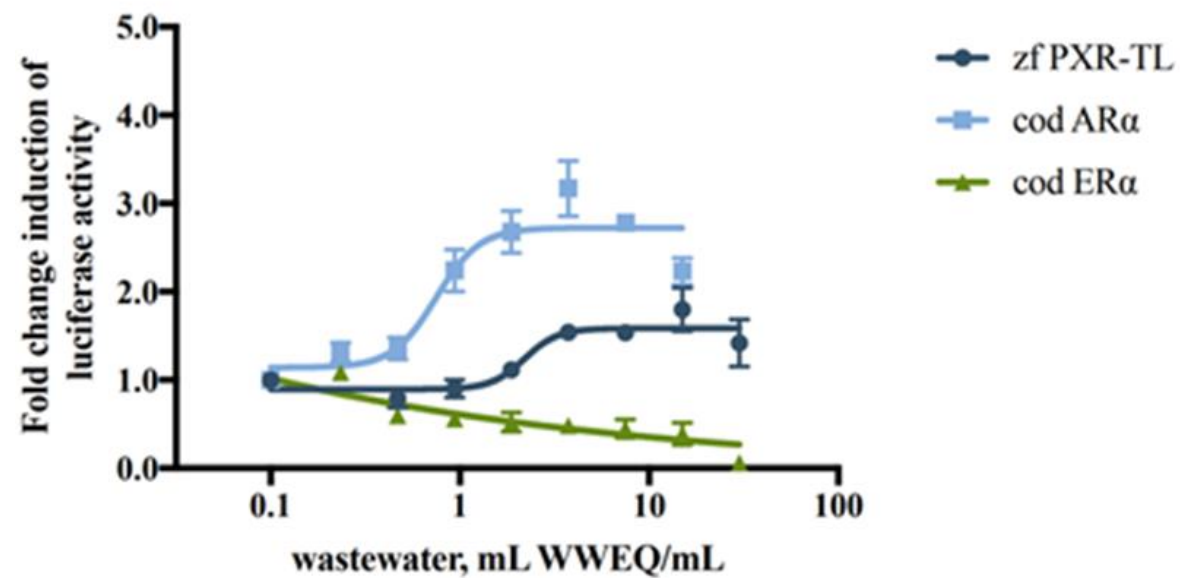


Ingen aktivering i slamprøvene

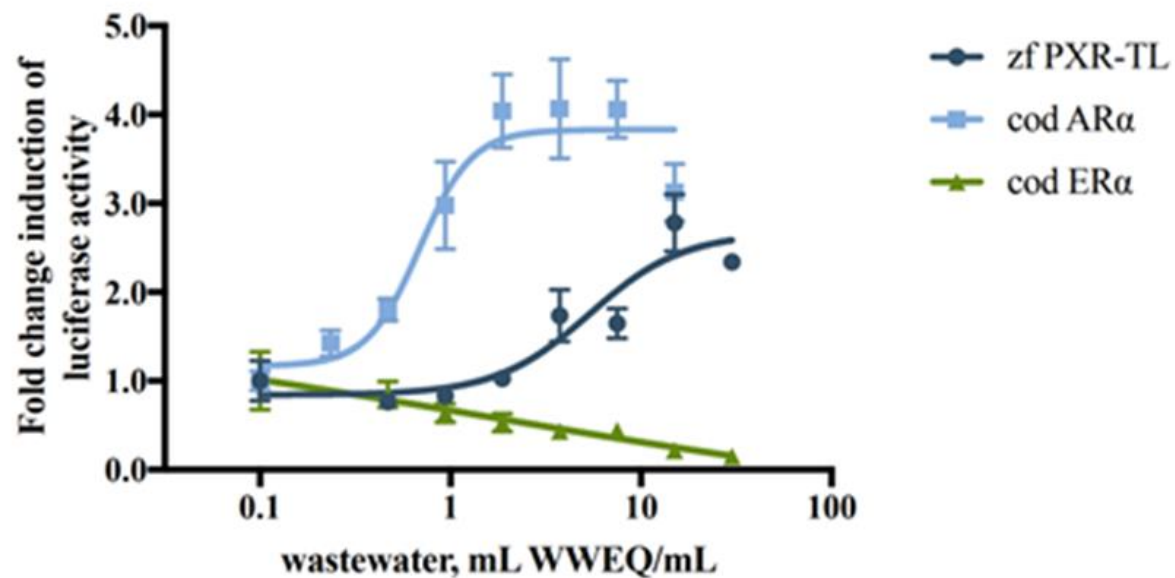
Aktivering av PXR

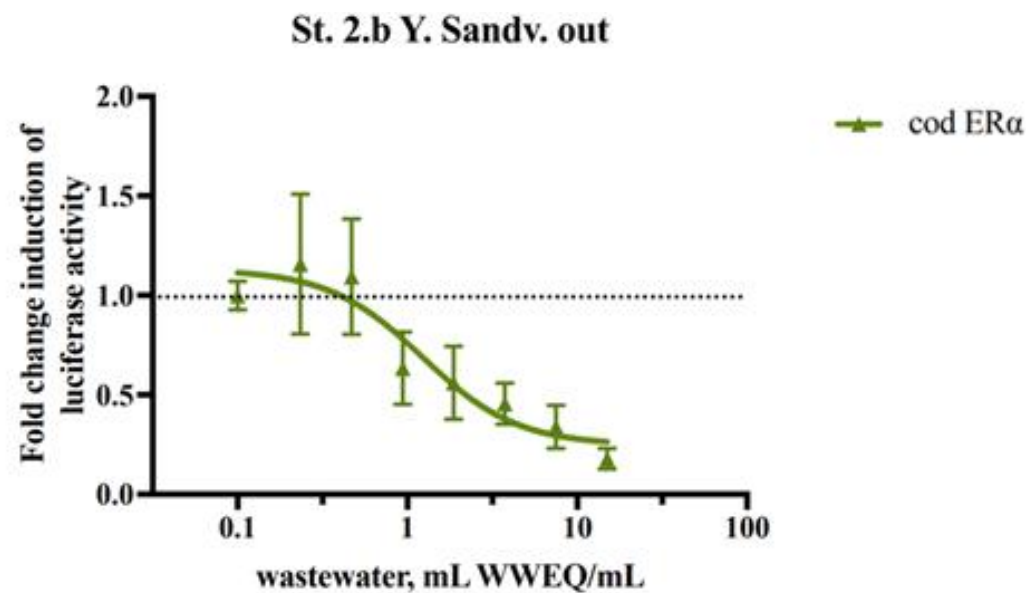
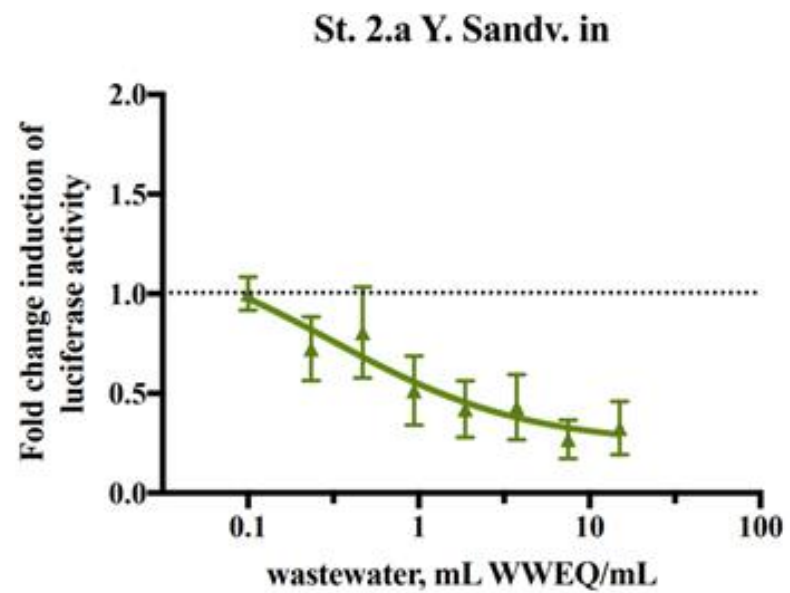
- Størst aktivering i Kvernevik ut, Ytre Sandviken ut og Kvernevik ut
 - Alle er «ut-prøver» = **etter rensing**
 - Retensjonstid i anleggene
 - Dekonjugering av stoffer som f.eks. carbamazepine
- Flammehemmeren TCPP
- PXR kan binde svært mange stoffer

St. 4.a Knappen in



St. 4.b Knappen out





Aktivering/inaktivering av ER



- Hverken avløpsvann eller slam aktiverte østrogenreseptor
- Østrogene stoffer ofte funnet i avløpsvann (Liu et al., 2009; Välitalo et al., 2016), (Thomas, 2007)
- Balanse?
- Inhibering → octocrylen og diclofenac?

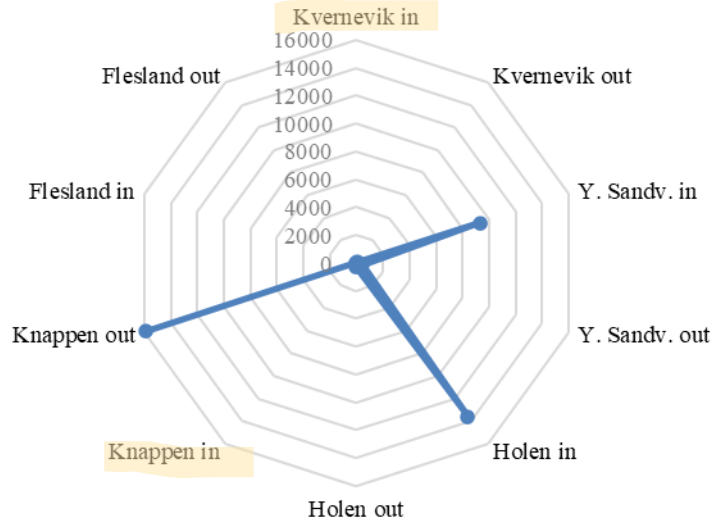
Celledød forårsaket av ekstraktene

	mL WWEQ/mL	Kvernevik		Y. Sandv.		Holen		Knappen		Flesland	
	mL SEQ/mL		+/-		+/-		+/-		+/-		+/-
a	15	66,47	3,36	77,76	4,33	71,13	4,53	80,62	1,15	87,43	2,57
	30	6,21	0,26	76,27	5,84	61,38	15,14	63,38	2,67	86,32	1,62

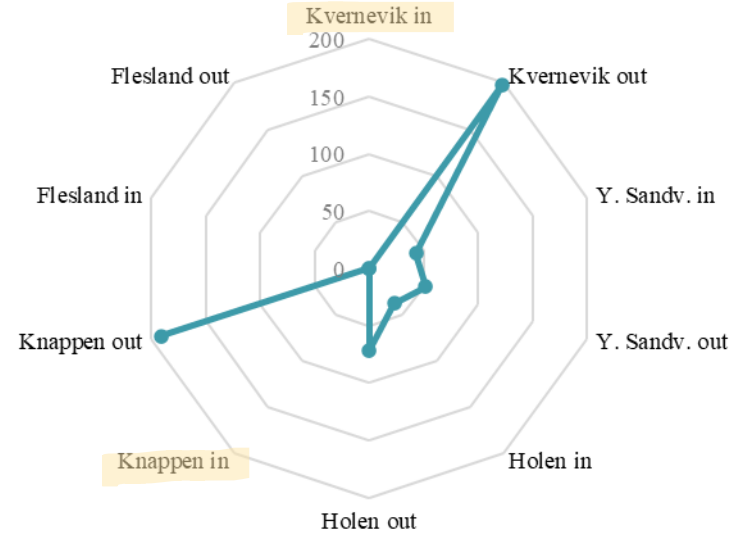
Celledød forårsaket av ekstraktene

	mL WWEQ/mL	Kvernevik	+/-	Y. Sandv.	+/-	Holen	+/-	Knappen	+/-	Flesland	+/-
	mL SEQ/mL										
a	15	66,47	3,36	77,76	4,33	71,13	4,53	80,62	1,15	87,43	2,57
	30	6,21	0,26	76,27	5,84	61,38	15,14	63,38	2,67	86,32	1,62
b	15	92,29	5,18	91,16	5,40	75,82	3,98	78,48	4,92	87,74	0,91
	30	92,79	1,77	90,52	0,66	77,66	1,68	71,63	5,09	96,38	9,72
s	15	90,49	3,92	85,26	4,19	-		89,05	2,79	84,42	5,51
	30	87,87	0,56	80,11	1,42	-		93,02	8,33	80,58	2,02

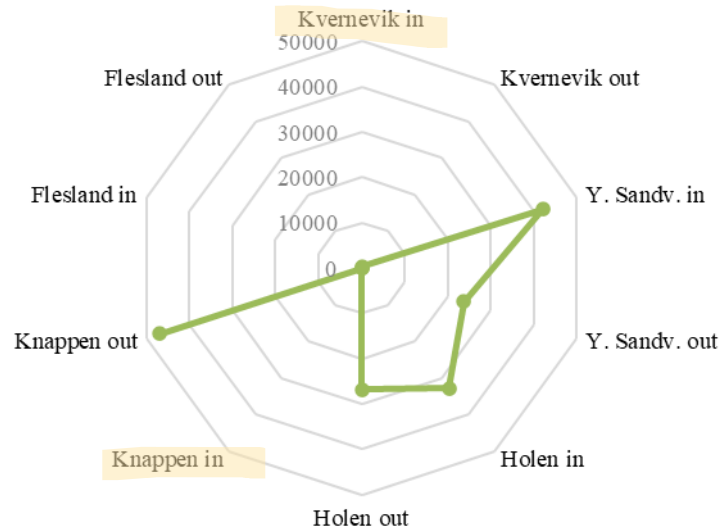
Acetaminophen, ng/L



Carbamazepine, ng/L



Caffeine, ng/L



- Prøver fra 1 dag
- Sesongvariasjoner (til og med variasjon mellom helg og ukedag!)
- Demografi
- Kun 3 reseptorer
- Kjemiske analysene usikre

2020 Calendar

January						
S	M	T	W	T	F	S
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	

February						
S	M	T	W	T	F	S
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29

March						
S	M	T	W	T	F	S
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	31				

April						
S	M	T	W	T	F	S
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30		

May						
S	M	T	W	T	F	S
					1	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
31						

June						
S	M	T	W	T	F	S
	1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20
21	22	23	24	25	26	27
28	29	30				

July						
S	M	T	W	T	F	S
			1	2	3	4
5	6	7	8	9	10	11
12	13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	

August						
S	M	T	W	T	F	S
						1
2	3	4	5	6	7	8
9	10	11	12	13	14	15
16	17	18	19	20	21	22
23	24	25	26	27	28	29
30	31					

September						
S	M	T	W	T	F	S
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30			

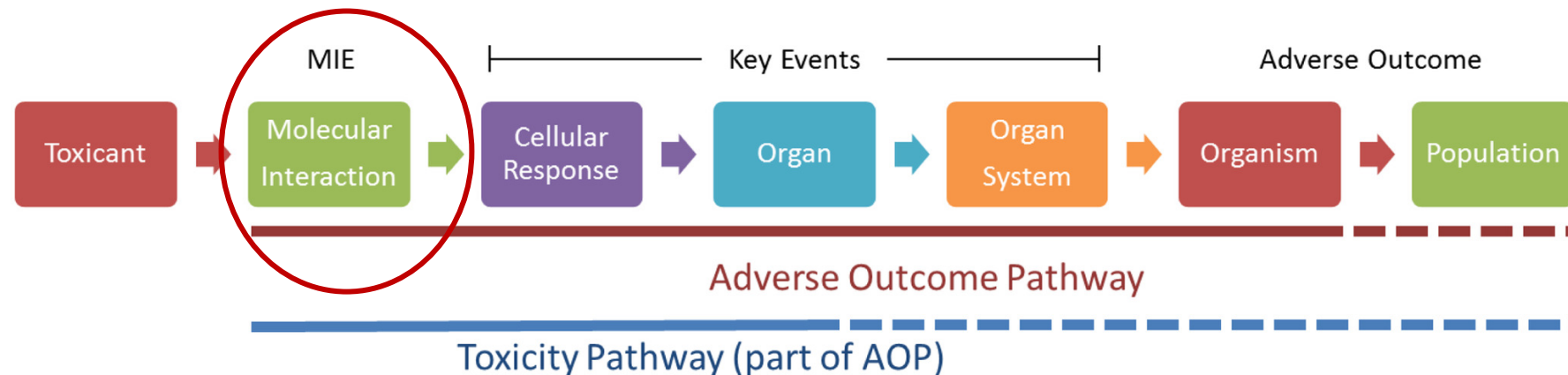
October						
S	M	T	W	T	F	S
				1	2	3
4	5	6	7	8	9	10
11	12	13	14	15	16	17
18	19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30	31

November						
S	M	T	W	T	F	S
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30					

December						
S	M	T	W	T	F	S
		1	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31		

Konklusjon

- Etablert at stoffer i avløpsvann kan aktivere reseptorer hos fisk *in vitro*



Figur fra Browne et al., 2017

- Avløpsvann etter rensing aktiverer reseptorer i større grad enn før rensing
- Slamprøver viste ingen tegn til aktivering
- Enkelte prøver av avløpsvann inneholder noe som tar knekken på celler
 - Hovedsakelig in-prøver, likevel relevant siden en stor del av Norges befolkning kun er koblet på enkle renseanlegg

Vi trenger mer forskning

Takk for oppmerksomheten!



