

# Sannolik tiaminbrist i Hanöbukten

Tomas Hansson & Lennart Balk

Institutionen för miljövetenskap och analytisk kemi (ACES), Stockholms universitet

[tomas.hansson@aces.su.se](mailto:tomas.hansson@aces.su.se), [lennart.balk@aces.su.se](mailto:lennart.balk@aces.su.se)

## Sammanfattande inledning

Tiaminbrist hos vilda djur är ett miljöproblem som i Sverige först observerades i början av 1970-talet i form av yngeldödlighet hos lax och havsöring, även om man då inte förstod att det rörde sig om brist på just tiamin. Detta upptäcktes först 1994 av den kanadensiske forskaren John D. Fitzsimons, som studerade motsvarande yngeldödlighet hos laxfiskar i Nordamerika, vilka hade drabbats på ett likartat sätt som laxfiskarna i Östersjön (Fitzsimons, 1995). Genom att injicera rent tiamin i nybefruktade laxägg som sedan kläcktes, kunde vi, något år senare, visa att det var just tiamin, i normal fysiologisk koncentration, och inget annat, som behövdes för att förhindra att laxynglen dog (Åkerman & Balk, 1998). Sedan dess har tiaminbrist påvisats även hos andra fiskar (Amcoff et al., 1999; Balk et al., 2016), samt hos reptiler (Sepúlveda et al., 2004), fåglar (Balk et al., 2009, 2016; Mörner et al., 2017) och blåmusslor (Balk et al., 2016) över stora delar av norra halvklotet. Det finns alltså både omfattande och starka vetenskapliga bevis för att tiaminbrist är en viktig orsak till att olika arter av djur nu dör på ett onaturligt sätt och att populationerna av dessa arter minskar. Trots detta är vissa aspekter av problemet svåra för många att ta till sig. Dessa aspekter är främst:

- Att tiaminbrist faktiskt dödar, både direkt, genom överdödlighet och misslyckad fortplantning, och indirekt, genom subletala effekter som på längre sikt dödar de drabbade individerna.
- Att tiaminbrist leder till en bred symptombild hos de drabbade djuren. Det beror på att tiamin har flera centrala funktioner i den basala ämnesomsättningen i alla levande celler. Man kan alltså bli sjuk på många olika sätt av tiaminbrist, och ofta med flera olika symptom samtidigt.
- Att tiaminbrist leder till nedsatt immunförsvar, vilket avsevärt underlättar angrepp av bakterier, virus, svamp och parasiter. Dessa infektioner misstas ofta för primära problem, medan de i själva verket är sekundära effekter av tiaminbrist.
- Att många arter och stora områden är drabbade av tiaminbrist. Många unga människor idag har aldrig sett en frisk natur utan tror att dagens utarmade natur är normal.
- Att tiaminbristen förekommer episodiskt, det vill säga att den drabbar djuren under en tid, kanske något eller några år i ett område, varefter den tillfälligt försvinner och sedan återkommer. Många tror att faran är över när tiaminbristen tillfälligt är mindre intensiv.

Vi har nyligen påvisat tiaminbrist i biota i flera områden runt Hanöbukten (se Tabell 1 i Appendix). Dessa områden omfattar Skånes kust och inland i söder och väster och Blekinge skärgård och inland i norr (Balk et al., 2009, 2016, 2018). En direkt koppling mellan tiaminbrist, överdödlighet och populationsminskningar har också påvisats hos ejder i skärgården på gränsen mellan Blekinge och Skåne i norra Hanöbukten (Mörner et al., 2017). Det är dessutom allmänt känt att laxen och havsöringen i Östersjön lider av återkommande tiaminbrist, vilket observeras när de vandrar upp i älvarna, inklusive Mörrumsån, för att leka. Med denna geografiska spridning av tiaminbristen är det osannolikt att djuren i just centrala Hanöbukten skulle vara förskonade från detta miljöproblem. För att veta säkert bör man dock givetvis analysera tiaminstatus hos djuren i just detta område. Faktum är att tiaminbrist är den enda idag kända miljöstörningen som ensam kan orsaka såväl de kraftigt minskade bestånden av den kustnära fisken som den ökade frekvensen av sårskador på fisken och den fågeldöd som observerats i Hanöbukten (Anonym, 2013), även om andra miljöstörningar

naturligtvis kan förvärra problemen. Det ska också påpekas att om framtida undersökningar skulle visa att djuren i Hanöbukten lider av tiaminbrist, så är detta problem inte unikt för Hanöbukten (Balk et al., 2016). Detta konstaterande förminskar dock inte på något sätt problemet, snarare tvärtom. Det är inte heller säkert att Hanöbukten är det värst drabbade området utmed den svenska kusten, även om problemen är allvarliga där.

Vi beskriver här våra kunskaper och erfarenheter av arbetet med tiaminbrist hos vilda djur för att illustrera hur även djuren i Hanöbukten sannolikt lider av tiaminbrist. Detta påpekade vi redan 2013 vid ett möte på Havs- och vattenmyndigheten (Balk et al., 2013a), samt vid konferensen "Vatten 13 – Vad har hänt med vattnet i Hanöbukten?" i Åhus (Balk et al., 2013b). Den viktigaste forskningsuppgiften just nu är att ta reda på vad som orsakar tiaminbristen. Precis som andra biomolekyler kan tiamin vara känsligt för olika miljöstörningar. Mycket pekar på att någonting kan vara stört hos de organismer i näringsväven som producerar tiamin. Det kan röra sig om en störning av syntesen eller lagringen av tiamin i dessa organismer, eller en förändring av tiaminets tillgänglighet för de konsumenter som livnär sig på tiaminproducenterna. Flera bidragande orsaker kan även förekomma samtidigt i olika kombinationer.



Figur 1. En ejderhane (guding) bromsar in för att landa på vattnet. Foto: Lennart Balk.

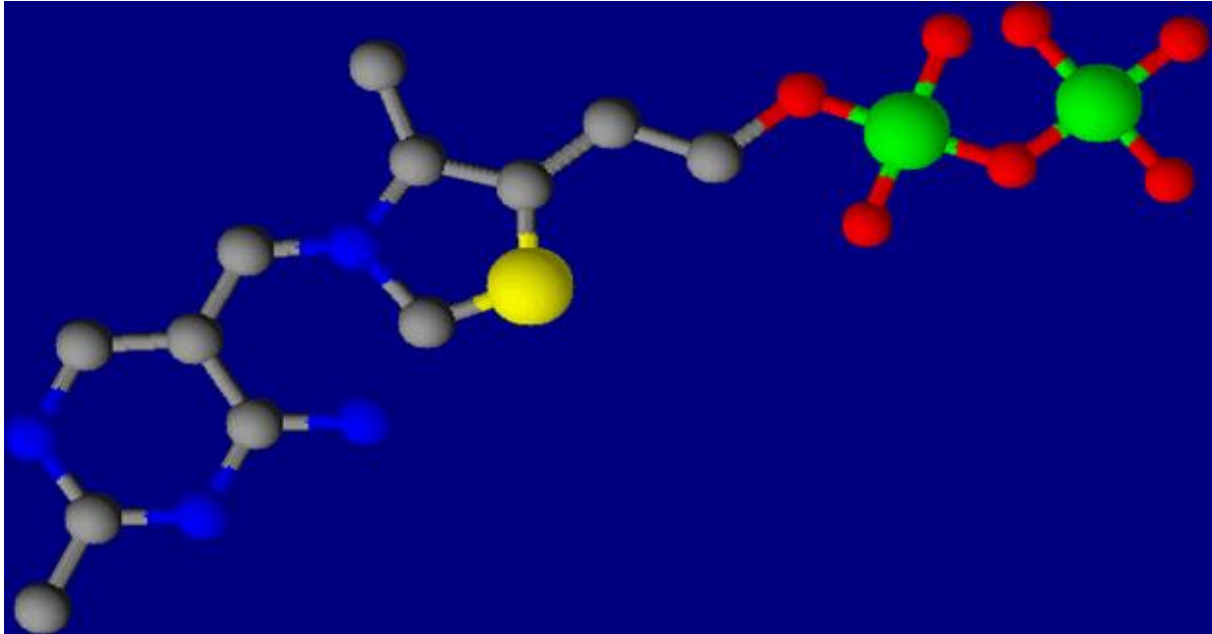
### Historisk tillbakablick

För ungefär 100 år sedan upptäckte man någonting i vår föda som är mycket viktigt för hälsan, eftersom man blir väldigt sjuk när just detta fattas i maten. I en av de första studierna som ledde till denna upptäckt fick duvor äta polerat ris, och just det som polerats bort verkade innehålla det som var viktigt för hälsan. Ämnet kunde isoleras och kallades tiamin, eftersom det innehöll svavel (*theion* på grekiska). Ett annat tidigt namn var aneurin, då man även observerade att ämnet var mycket viktigt för olika neurologiska funktioner. Så småningom blev det också benämnt vitamin B<sub>1</sub>, då man insåg att det var ett av de först upptäckta vattenlösliga vitaminerna som människor och djur behöver få i sig via födan. Trots den nya kunskapen fortsatte man att konsumera polerat ris på vissa platser i Asien fram till i mitten av 1900-talet, vilket från och till orsakade tiaminbrist hos människor.

Bristsjukdomen kallades i detta sammanhang för beriberi. Än idag gör man nya upptäckter av hur olika biologiska system i människors och andra djurs kroppar påverkas negativt av just tiaminbrist.

### Tiaminets biologiska funktion

Allt tiamin i näringsväven produceras av de fotosyntetiserande terrestra och akvatiska växterna, samt i begränsad omfattning även av vissa svampar och bakterier, medan alla djur måste få i sig tiamin via födan. Tiaminet spelar en mycket central roll i våra celler (Manzetti et al., 2014). Idag känner vi till fem olika tiaminberoende enzymer, som alltså behöver tiamin för att fungera, och som finns i alla levande celler. Dessa enzymer katalyserar några av de mest centrala kemiska reaktionerna i ämnesomsättningen och är absolut nödvändiga för att levande organismer ska överleva och må bra.



Figur 2. Den kemiska strukturen för tiamindifosfat, det vill säga den form av tiamin som fungerar som kofaktor i de tiaminberoende enzymerna.

För att förstå tiaminets centrala funktion i kroppen måste man känna till de metaboliska huvudvägar där de tiaminberoende enzymerna ingår. Ett av dessa enzymer är transketolas, som är aktivt i den så kallade hexosmonofosfat-shunt, som är en viktig reaktionsväg till och från glykolysen. I hexosmonofosfat-shunt produceras byggstenar för syntes av nukleinsyror (DNA och RNA); NADPH för att skydda cellen mot oxidation och för att möjliggöra syntes av fetter; samt olika monosackarider för vidare metabolism i glykolysen.

Slutprodukten i glykolysen är pyruvat, som måste tas om hand av ett annat tiaminberoende enzym, pyruvatdehydrogenas. Detta enzym omvandlar pyruvat till acetyl-CoA, som går vidare till en tredje reaktionsväg, citronsyrcykeln, som också kallas Krebs cykel. Hämning av pyruvatdehydrogenas vid tiaminbrist leder till att pyruvat istället omvandlas till giftig mjölksyra, som är en trolig orsak till de hjärnskador som tiaminbrist ofta leder till.

I citronsyrcykeln finns ett tredje tiaminberoende enzym,  $\alpha$ -ketoglutaratdehydrogenas, vars hämning vid tiaminbrist minskar produktionen av NADH, som är en drivande molekyl i andningskedjan (cellandningen), det vill säga förmågan att utnyttja syret i luften vi andas. När det blir brist på NADH försöker cellen att uppreglera produktionen av denna molekyl genom så kallad  $\beta$ -oxidering (nedbrytning) av fetter. I en normal cell skulle detta fungera utmärkt, medan det vid tiaminbrist bara

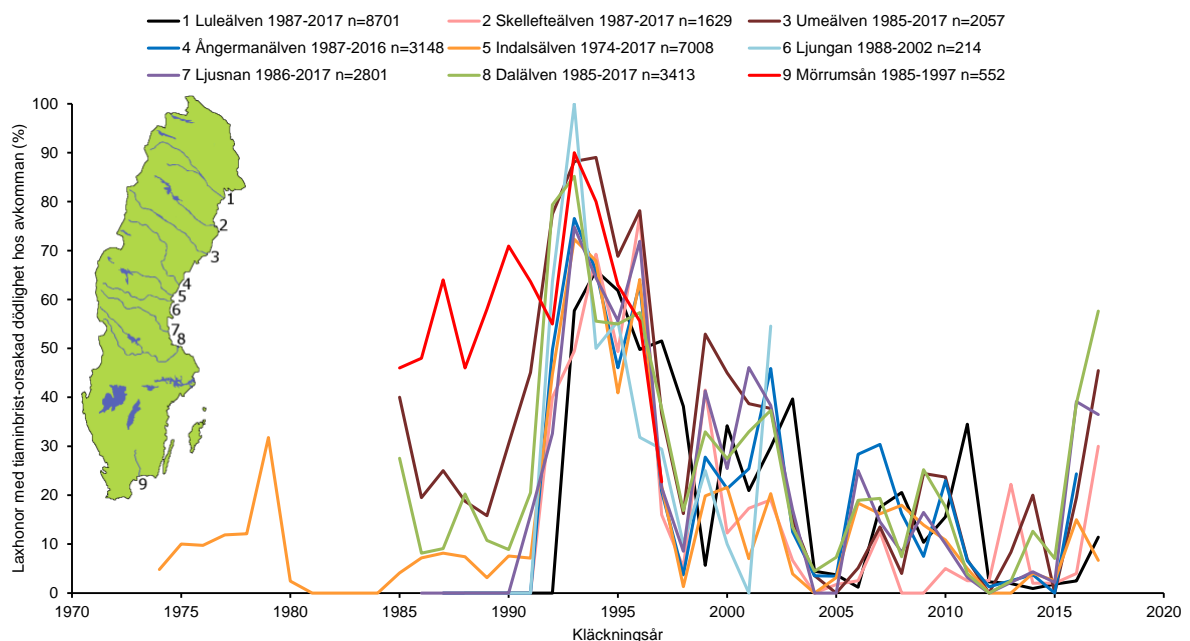
leder till att fetterna bryts ner. Detta är precis vad som nu observeras hos flera arter av vilda djur i fält.

Ett fjärde tiaminberoende enzym behövs för att omvandla tre specifika aminosyror (valin, leucin och isoleucin). Eftersom dessa och andra aminosyror (vanligtvis 20 olika) är byggstenar i alla proteiner, så kommer även en hämning av detta enzym att leda till kraftigt störd ämnesomsättning. Förändrade proteinkoncentrationer i cellerna har observerats vid tiaminbrist (Balk et al., 2018).

Det femte tiaminberoende enzymet behövs för så kallad  $\alpha$ -oxidering av vissa lipider, som bildas framförallt vid nedbrytningen av klorofyll. Hämning av detta enzym leder till anrikning av fytansyra, som är mycket giftig. Sammanfattningsvis leder alltså brist på tiamin till allvarliga störningar i ämnesomsättningen av kolhydrater, fett och protein, det vill säga de mest grundläggande ämnena i den levande cellen.

### Dödlighet hos laxyngel i Europa och Nordamerika ledde till att tiaminbristen upptäcktes

Fram till och med 1960-talet byggdes många svenska älvar ut med kraftverksdammar, vilket förstörde möjligheterna för den vandrande fisken att leka och reproducera sig naturligt. Eftersom man ville behålla laxstammarna från dessa älvar åtminstone i havet, byggdes så kallade kompensationsodlingar en bit upp från älvmyrningen för att föda upp yngel av vandrande lax och havsöring för utplantering. Det var i dessa odlingar man upptäckte att embryona i äggen eller de kläckta ynglen dog. Det är således egentligen till stor del en slump att man över huvud taget upptäckte tiaminbristen i miljön.



Figur 3. Frekvensen av vuxna laxhonor med tiaminbrist-inducerad dödlighet hos ynglen i svenska älvar 1974–2017 (Balk et al., 2016; Börjeson, 2017).

I början av 1990-talet inträffade en mycket omfattande dödlighet hos laxyngel i flera svenska älvar. Liknande dödlighet förekom även hos vandrande laxfiskar i Nordamerika. Den kanadensiske forskaren John D. Fitzsimons upptäckte 1994 att ägg och yngel led av tiaminbrist, och att det var denna brist som orsakade dödligheten (Fitzsimons, 1995). Flera forskare runt Östersjön kunde kort därefter, oberoende av varandra, konstatera att motsvarande brist på tiamin förekom även i Östersjöområdet hos lax och havsöring. Både i Östersjöområdet och vid flera av de Stora Sjöarna på

den nordamerikanska kontinenten erinrade sig de som arbetat med kläckning och uppfödning av laxyngel att typiska symptom för denna dödlighet hade börjat dyka upp redan i början på 1970-talet. I Östersjöområdet hade sjukdomen fått namnet M74, vilket är en förkortning av Miljöfaktor och år 1974, eftersom de första symptomen observerades detta år och man misstänkte att problemet var miljöbetingat.

Att det tog mer än 20 år av episodiskt förekommande dödlighet innan forskarna upptäckte att denna dödlighet berodde på tiaminbrist, visar hur lite vi förstår av de viktiga kemiska skeendena i vår natur. När det gäller fåglar av olika arter tog det mer än 35 år innan tiaminbristen påvisades säkert. Typiska symptom hos fåglar observerades förmodligen första gången 1972 (personlig kommunikation med Rune Gerell, ornitolog och inventerare) i samband med en undersökning av fågellivet i Blekinge skärgård (Gerell, 1976), men det dröjde ända till 2009 innan dessa symptom säkert kunde knytas till tiaminbrist genom kemiska och biokemiska analyser (Balk et al., 2009).

En möjlig hypotes är att den extremt höga dödligheten hos laxyngel i mitten av 1990-talet (se Figur 3) ledde till en urvalsprocess som gynnade individer (genotyper) som är något bättre på att klara tiaminbrist. Den tid då dödligheten var som högst motsvarar nämligen ungefär en generation för laxen. Till exempel skulle individer med större förmåga att ta upp och eller behålla tiamin kunna ha gynnats. Även detta vore dock allvarligt, eftersom ett kraftigt urval under kort tid medför stor förlust av genetisk variation. Att dödligheten minskade i slutet av 1990-talet, och sedan dess har varierat mellan 0 och över 50 procent med ett medelvärde på ca 20–25 procent, behöver alltså inte betyda att bristen på tiamin i miljön har blivit mindre, utan skulle lika gärna kunna bero på att de känsligaste individerna har sållats bort. En indikation att tiaminbristen faktiskt ökar i miljön är att man i år (2017) har observerat de högsta M74-frekvenserna i svenska älvar sedan mitten av 1990-talet (Börjeson, 2017).

### **M74 är endast toppen på ett isberg**

Termen M74 står för andelen honor vars avkomma dör mycket tidigt under utvecklingen, det vill säga som embryo eller gulesäcksyngel. Det är viktigt att inse att denna dödlighet endast utgör toppen på ett isberg, då det är välkänt att tiaminbrist även har många negativa hälsoeffekter som inte är direkt dödliga. Frånvaro av dödlighet innebär alltså inte nödvändigtvis frånvaro av tiaminbrist. Även de icke direkt dödliga effekterna av tiaminbrist leder till att populationer efterhand minskar och försvinner.

Det är också värt att notera att man i slutet av 1980-talet började observera minskande populationer även hos många andra äggläggande djurarter, även om man då inte heller i dessa fall kopplade detta till tiaminbrist. Det är först på senare tid som bilden har vuxit fram (Balk et al., 2009, 2016; Mörner et al., 2017) att tiaminbrist troligtvis är en starkt bidragande orsak till flera av de populationsminskningar som vi känner till idag. Den globala populationen av havsfåglar minskade med ca 70 % mellan 1950 och 2010 (Paleczny et al., 2015), och populationerna av både landlevande och vattenlevande ryggradsdjur halverades mellan 1970 och 2010/2012 (McLellan et al., 2014; Tanzer et al., 2015). Vidare har många insektspopulationer minskat med upp till 75 % under de senaste decennierna (Öckinger et al., 2006a, 2006b; Franzén & Johannesson, 2007; Nilsson et al., 2008; Hallmann et al., 2017). Den pågående globala populationsminskningarna (Hoffmann et al., 2010; Vredenburg et al., 2010) har ibland beskrivits som den sjätte massutrotningen (Barnosky et al., 2011).

### **Symptom vid tiaminbrist**

Symptombilden vid tiaminbrist är mycket bred, och bristen resulterar alltså i ett helt spektrum av allvarliga störningar, som till exempel effekter på nervsystemet, störningar i flera organ, försämrade

reproduktion och undernäring, både hos vuxna individer och deras avkomma (Xu et al., 2002). Symptomen kan förekomma enskilt eller tillsammans i olika kombinationer. Bakgrunden till detta är att även om tiaminbristen påverkar de flesta celler på ett likartat sätt, så påverkas symptombilden av graden och förloppet av tiaminbristen, samt av variation mellan arter och individer när det gäller förmågan att ta hand om de giftiga cellulära metaboliter som tiaminbristen ger upphov till. En del störningar är uppenbara och lätta att diagnosticera, medan andra är mer subtila och kan misstas för andra effekter. Speciellt gäller detta de så kallade sekundära effekterna av tiaminbrist, varav en är kraftigt nedsatt motståndskraft mot bakterier, virus, svamp och parasiter (nedsatt immunförsvar). Andra sekundära effekter är minnesstörningar, beteendestörningar och inlärningssvårigheter, försämrade orienteringsförmåga, minskad temperaturregleringsförmåga, ansträngd andhämtning och försämrade sinnesfunktioner såsom lukt, syn och hörsel. Djuren drabbas alltså hårt redan i tidiga stadier av tiaminbrist.



Figur 4. Numera påträffas mycket ofta lekvandrande lax med svampangrepp och andra infektioner. Eftersom laxarna också är magra kan det vara svårt att se att de dött före lek (övre bilden), men när man skär upp bukhålan på honorna ser man att rommen är kvar (liksom mjölken hos hanarna). Honorna har för lite tiamin i sina kroppar redan från början, och de får än värre brist när de försöker föra över tiamin till äggen.

Foto: Mattias Holmquist, Mörrums Kronolaxfiske.

Det är också vanligt att tiaminbrist orsakar irreversibla skador, även i fall där man genom tiaminbehandling har räddat individer från att dö (Fattal-Valevski et al., 2005; Mimouni-Bloch et al., 2014). Den biokemiska bakgrunden till de irreversibla skadorna är ännu inte känd i detalj. Två bidragande orsaker tycks dock vara: 1) att de cellulära systemen med tiaminberoende enzymer inte alltid kan återhämta sig efter en episod av tiaminbrist (McCandless et al., 1968; Gibson et al., 1984; Parker et al., 1984; Butterworth et al., 1985, 1989; Giguère & Butterworth, 1987; Héroux & Butterworth, 1988); och 2) selektiv celldöd på grund av tiaminbristen (Lê et al., 1991; Leong et al., 1994; Hamada et al., 2013; Zhao et al., 2014). Förekomsten av irreversibla skador utgör dock en av de mest oroväckande effekterna av tiaminbristen, det vill säga att många djur i vår miljö får permanenta

fysiologiska skador. Det ska också tilläggas att tiaminbrist skadar blod-hjärn-barriären (Harata & Iwasaki, 1995; Calingasan & Gibson, 2000), så att hjärnan exponeras för giftiga ämnen som den normalt är skyddad ifrån.

### **Subletala effekter missas igen, som i mitten av 1900-talet**

Att tiaminbrist med tiden leder till att djuren dör är välkänt sedan länge. Nu vill vi framför allt poängtera den höga förekomsten av sådana effekter av tiaminbrist som leder till sämre hälsa och reproduktion, men som inte är direkt dödande, så kallade subletala effekter. Även denna påverkan är mycket allvarlig då den på sikt leder till att populationer minskar och försvinner (Balk et al., 2016). Exempel på subletala effekter kopplade till tiaminbristen är minskad tillväxt, förändrade organstorlekar, allmänt försämrad näringsstatus, försämrade blodvärden, ökade infektioner, förändrat beteende, försämrad simförmåga och mycket allvarliga effekter på fortplantningen (Balk et al., 2009, 2016). Kopplingen mellan dessa effekter och tiaminbrist har tidigare påvisats för flera olika arter av försöksdjur på laboratoriet, men nu således även hos vilda djur i fält (Balk et al., 2009, 2016, 2018; Mörner et al., 2017).

När det gäller samhällets syn på tiaminbristproblemet är det intressant att jämföra med de klassiska miljögifterna, som DDT, PCB, dioxiner, bromerade flamskyddsmedel och andra långlivade och giftiga organiska ämnen. Trots att allvarlig tiaminbrist har observerats sedan början av 1970-talet så har den allra mesta forskningen handlat om direkt dödlighet och inte subletala effekter. Det påminner starkt om hur man såg på effekterna av klassiska miljögifter under perioden 1950–1970, då man nästan uteslutande studerade direkt dödlighet. Det var inte förrän i mitten av 1960-talet som man började uppmärksamma subletala effekter och insåg att giftverkan förekom vid koncentrationer som kunde vara flera tiopotenser lägre än de som var direkt dödliga. Det blev då uppenbart att problemen var mycket allvarligare än man tidigare hade insett, precis som för tiaminbrist nu.

### **Hur man påvisar tiaminbrist**

Tiaminbrist påvisas i de undersökta djuren i form av sänkta tiaminkoncentrationer (kemisk analys) och sänkta aktiviteter hos de tiaminberoende enzymerna, till exempel transketolas och  $\alpha$ -keto-glutaratdehydrogenas (biokemisk analys). Dessutom uppmäts en förhöjd andel av dessa enzymer där kofaktorn tiamindifosfat saknas (biokemisk analys). Det ska poängteras att alla dessa metoder är väl etablerade sedan flera decennier, såväl inom sjukvården och veterinärmedicinen som inom forskningen. Tiaminbrist påvisas också genom att tiaminbehandling av drabbade individer leder till förbättrad tiaminstatus och förbättrad hälsa. Tiaminbehandling ska nämligen inte ha någon som helst effekt på djur som inte har tiaminbrist, där överskottet av tiamin bara utsöndras (Wood et al., 1980; Roth-Maier et al., 1990, 1997; Fynn-Aikins et al., 1998; Halver, 2002; Kennedy, 2016).

Utöver de biomarkörer som direkt mäter tiaminstatus finns också ett flertal andra biomarkörer som också speglar tiaminstatus fast mer indirekt och inte alltid specifikt. Exempel på sådana biomarkörer är: tillväxt; kondition; fysisk uthållighet; beteendeförändringar; organstorlekar; reproduktionsutfall; infektioner och parasitangrepp; blodstatus; och histopatologiska förändringar.

### **Aktuella forskningsresultat**

Exempel på arter från norra halvklotet som nu har undersökts, och där tiaminbrist påvisats med kemiska och biokemiska metoder, är lax, havsöring, amerikansk och europeisk ål, blåmussla, gråtrut, stare och ejder (Balk et al., 2009, 2016; Mörner et al., 2017). Vidare har uppgifter om tiaminkoncentrationer i äggen hos vilda laxfiskar, publicerade i den befintliga litteraturen, utvärderats på

nytt i ljuset av de nya resultaten och bidragit till en mer exakt bild av förekomsten av letal och subletal tiaminbrist i Stilla Havet, Nordamerika, Atlanten och norra Europa (Balk et al., 2016).

Undersökningar utförda från mitten av 1990-talet och framåt har upprepade gånger påvisat allvarlig tiaminbrist hos laxfiskar i Nordamerika och norra Europa. Dessa undersökningar har dock oftast fokuserat huvudsakligen på direkt dödlighet hos avkomman, det vill säga embryodödlighet i äggen och yngeldödlighet under gulesäckskonsumtionen. I undersökningen av Balk et al. (2016) studerades även de subletala störningarna hos både föräldrar och avkomma, och det kunde då konstateras att tiaminbristproblemet är kraftigt underskattat. I tidigare studier av laxfiskar har man ofta kommit fram till att gränsen för direkt dödlighet hos avkomman ligger vid en tiaminkoncentration i äggen på ca 4 nanomol tiamin per gram ägg. I undersökningen av Balk et al. (2016) visas att gränsen för subletal tiaminbrist förmodligen ligger kring 18 nanomol tiamin per gram ägg, det vill säga väsentligt högre än gränsen för direkt dödlighet. Sammantaget innebär detta att en mycket större andel av populationerna av olika laxfiskar lider av skadlig tiaminbrist än vad man tidigare har insett.



Figur 5. Uppspolade döda blåmusslor på en strand i Blekinge. Foto: Le Carlsson.

Analyser av både amerikansk och europeisk ål har visat att tiaminkoncentrationerna i olika organ och vävnader är alldeles för låga, kanske bara en femtedel av vad som behövs för vandringen till lekstränderna i Sargassohavet och en lyckad fortplantning som ger frisk avkomma (Balk et al., 2016). Denna tiaminbrist kan mycket väl ensam förklara ålpopulationernas kraftiga nedgång på norra halvklotet under de senaste decennierna. Det är också troligt att andra effekter av tiaminbrist som nu observeras hos ålarna – till exempel försämrad tillväxt, dålig kondition och nedsatt immunförsvar – förekommer analogt även hos andra arter av fiskar och fåglar i de undersökta områdena.

Undersökningarna fram till nu visar att tiaminbristen förekommer episodiskt, det vill säga att den varierar i intensitet i både tid och rum (se Figur 3). Till exempel verkar den svenska östersjökusten



(Egentliga Östersjön) vara särskilt hårt drabbad, åtminstone tidvis, jämfört med till exempel flera områden på Island. Den episodiska förekomsten talar emot klassiska miljögifter som orsak till tiaminbristen, eftersom dessa inte varierar på det sättet i miljön. Många klassiska miljögifter minskar för närvarande i miljön (Bignert et al., 2017), och de har relativt liten mellanårsvariation. En annan mycket viktig observation är att tiaminbristen förekommer på flera olika nivåer av konsumenter i näringskedjan, från primärkonsumenter, som älg och blåmussla, till toppredatorer, som lax och gråtrut (Balk et al., 2009, 2016, 2018; Mörner et al., 2017). Det är alltså inte toppredatorerna som drabbas värst, som i fallet med biomagnifikation av långlivade fettlösliga organiska miljögifter. Allvarlig tiaminbrist är lika vanligt hos växtätare långt ner i näringskedjan som hos rovdjur högre upp i näringskedjan.

### **Tiaminbrist-scenariot stämmer med övriga observationer i Hanöbukten**

Tiaminbrist-scenariot är fullt förenligt med resultaten från de undersökningar av hälsan hos skrubbskädda i Hanöbukten 2015–2016, som presenteras i en annan del av denna rapport (Förlin, 2017). Våra undersökningar har visat att tiaminbrist kan vara förknippat med: minskad äggproduktion; nedsatt immunförsvar; oxidativ stress; och ökad EROD-aktivitet (Balk et al., 2009, 2016; Mörner et al., 2017). Därför är det inte förvånande att det hos skrubbskäddorna i Hanöbukten nu observeras: hämrad utveckling av könsorganen med minskad vitellogenin-produktion hos honorna som följd; påverkan på immunförsvaret; aktiverat oxidantförsvar; och ökning av EROD-aktiviteten. Dessa effekter hos skrubbskäddorna i Hanöbukten varierar dessutom episodiskt över tiden.

I ytterligare en annan del av denna rapport presenteras resultaten från de provfisken som utförts i Hanöbukten och andra delar av Östersjön 2015–2016 (Olsson, 2017). Resultat av provfisken i dessa områden presenteras också av Eero et al. (2015) och Svedäng & Hornborg (2017). Bland annat kan det konstateras att konditionen hos torsk och skrubba är låg och att många individer har hudsår. Även dessa resultat är fullt förenliga med ett tiaminbrist-scenario, eftersom tiaminbrist ofta leder till lägre kondition och minskad vitalitet. Det ska också påpekas att måttlig svält inte leder till tiaminbrist, medan tiaminbrist ofta leder till anorexi (Balk et al., 2009).

### **Situationen i Hanöbukten är troligen inte unik**

När det gäller tiaminbrist så är situationen i Hanöbukten inte unik. I till exempel Södermanlands skärgård finns nästan inte någon reproduktion hos vitfågel längre. Som exempel kan nämnas att antalet gråtrutbon på ön Garkast (tidigare en välkänd gråtrutkoloni) nu har minskat till en bråkdel av det antal som fanns 2005 (personlig kommunikation med Göran Altstedt, ornitolog och inventerare). Inte heller ejdern lyckas numera producera några ungar i Södermanlands skärgård, och blåmusslorna har minskat vid eller försvunnit från flera lokaler (Balk et al., 2016). Generellt verkar djuren försvinna först från de lokaler som hyser få individer.

### **Framtidsperspektiv**

Den biogeokemiska miljön är idag starkt påverkad av människan, både direkt genom utsläpp av miljögifter och näringsämnen och indirekt genom förändrade biogeokemiska kretslopp. I ett historiskt perspektiv är den nuvarande omfattningen av människans påverkan på naturen enorm, till exempel alla industriellt framställda kemikalier som släpps ut i miljön. Detta gör att sökandet efter tiaminbristens orsak måste ske i flera steg. Innan man kan börja testa olika misstänkta ämnen måste man först ta reda på vilka arter, nivåer i näringskedjan och geografiska områden som är drabbade och hur tiaminbristen varierar i tiden, vilket vi nu till stor del har gjort (Balk et al., 2009, 2016; Mörner et al., 2017; samt referenser i dessa artiklar).

Listan över drabbade arter från olika djurklasser börjar bli lång och inkluderar nu både musslor, fiskar, reptiler och fåglar. Det faktum att tiaminbristen har observerats över stora geografiska områden på norra halvklotet är illavarslande. Allvaret i den rådande situationen understryks också av att många av de undersökta individerna verkar ha en tiaminstatus som ligger på gränsen för att de överhuvud taget ska överleva (Balk et al., 2016). Det kan idag inte uteslutas att den observerade tiaminbristen är så omfattande att den bidrar signifikant till det pågående globala utdöendet av många djurarter. Denna förlust av biologisk mångfald har av andra forskare utpekats som det just nu allvarligaste hotet mot livet på jorden (t.ex. Rockström et al., 2009).

Om tiaminbristen inte utreds och åtgärdas så är det stor risk att flera av Sveriges miljömål inte kommer att kunna uppnås, till exempel:

- 8. Levande sjöar och vattendrag
- 10. Hav i balans samt levande kust och skärgård
- 11. Myllrande våtmarker
- 12. Levande skogar
- 13. Ett rikt odlingslandskap
- 16. Ett rikt växt- och djurliv

### **Fortsatt forskning krävs**

Det övergripande målet för forskningen måste nu vara att finna den bakomliggande orsaken till tiaminbristen, det vill säga hur den uppkommer i våra ekosystem. Denna fråga är fortfarande obesvarad, trots att ett hundratal forskare arbetade med tiaminbristen hos olika laxfiskar under ett antal år på 1990-talet (McDonald et al., 1998; Bengtsson et al., 1999), och i Nordamerika även på 2000-talet (Blazer & Brown, 2005; Honeyfield et al., 2009). De hittills erhållna resultaten utgör dock nödvändig baskunskap för att kunna gå vidare och undersöka möjliga biokemiska mekanismer. Denna baskunskap innefattar bland annat tiaminbristens utbredning i tid och rum, samt bland olika arter. Härigenom kan möjliga orsakssammanhang börja urskiljas och kandidater till en mekanism sållas fram, för att sedan undersökas mer i detalj. Eftersom tiaminbristen har dykt upp ungefär samtidigt, och varierar episodiskt på ett likartat sätt, hos de olika arterna är det mest sannolika att problemet har en gemensam orsak hos alla de arter som är drabbade idag. Under åren har ett antal hypoteser förts fram, men ännu har ingen generell förklaring accepterats. Det vidare arbetet kommer att kräva många kemiska och biokemiska analyser, och sannolikt även en hel del metodutveckling.

### **Referenser**

Amcoff, P., Börjeson, H., Landergren, P., Vallin, L. & Norrgren, L. 1999. Thiamine (vitamin B<sub>1</sub>) concentrations in salmon (*Salmo salar*), brown trout (*Salmo trutta*) and cod (*Gadus morhua*) from the Baltic Sea. *Ambio* 28, 48–54.

Anonym. 2013. Hanöbukten, Regeringsuppdrag, Havs- och vattenmyndighetens rapport 2013-10-29. Havs- och vattenmyndigheten, Göteborg, Sverige.

Balk, L. et al. 2009. Wild birds of declining European species are dying from a thiamine deficiency syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 12001–12006.

Balk, L. et al. 2013a. Thiamine and thiamine deficiency (On-line, 2013). Muntlig presentation vid "Hearing 1 om Hanöbukten" på Havs- och vattenmyndigheten i Göteborg, 26 februari, 2013. <https://www.havochvatten.se/download/18.732980de143b1b1de533770/1392025642998/tiaminbrist.pdf>

- Balk, L. et al. 2013b. Hanöbukten, a bay in southern Sweden, where thiamine (vitamin B<sub>1</sub>) deficiency cannot be excluded as the primary cause of the ecosystem disturbance. Sammandrag presenterat vid konferensen "Vatten 13 – Vad har hänt med vattnet i Hanöbukten?" i Åhus, 21 november, 2013.
- Balk, L. et al. 2016. Widespread episodic thiamine deficiency in Northern Hemisphere wildlife. *Sci. Rep.* 6, 38821.
- Balk, L. et al. 2018. Severe thiamine deficiency in feral mammalian species in the Northern Hemisphere. In preparation.
- Barnosky, A. D. et al. 2011. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471, 51–57.
- Bengtsson, B.-E., Hill, C., Nellbring, S. & Kessler, E. (eds.) 1999. Reproductive disturbances in Baltic Sea fish: An international perspective, *Ambio* 28(1).
- Bignert, A., Danielsson, S., Ek, C., Faxneld, S. & Nyberg, E. 2017. Comments concerning the National Swedish Contaminant Monitoring Programme in Marine Biota, 2017, Report No. 4:2017, Swedish Museum of Natural History.
- Blazer, V. S. & Brown, L. L. (eds.) 2005. Early mortality syndrome in Great Lakes salmonines, *Journal of Aquatic Animal Health* 17(1).
- Butterworth, R. F., Giguere, J.-F. & Besnard, A.-M. 1985. Activities of thiamine-dependent enzymes in two experimental models of thiamine-deficiency encephalopathy: 1. The pyruvate dehydrogenase complex. *Neurochem. Res.* 10, 1417–1428.
- Butterworth, R. F. & Héroux, M. 1989. Effect of pyriithiamine treatment and subsequent thiamine rehabilitation on regional cerebral amino acids and thiamine-dependent enzymes. *J. Neurochem.* 52, 1079–1084.
- Börjeson, H. 2017. Redovisning av M74-förekomsten i svenska kompensationsodlade laxstammar från Östersjön för 2017. Sveriges lantbruksuniversitet. Mimeo, 5 sidor.
- Calingasan, N. Y. & Gibson, G. E. 2000. Dietary restriction attenuates the neuronal loss, induction of heme oxygenase-1 and blood-brain barrier breakdown induced by impaired oxidative metabolism. *Brain Res.* 885, 62–69.
- Eero, M. et al. 2015. Eastern Baltic cod in distress: biological changes and challenges for stock assessment. *ICES J. Mar. Sci.* 72, 2180–2186.
- Fattal-Valevski, A. et al. 2005. Outbreak of life-threatening thiamine deficiency in infants in Israel caused by a defective soy-based formula. *Pediatrics* 115, e233–e238.
- Fitzsimons, J. D. 1995. The effect of B-vitamins on a swim-up syndrome in Lake Ontario lake trout. *Suppl. J. Great Lakes Res.* 21, 286–289.
- Franzén, M. & Johannesson, M. (2007) Predicting extinction risk of butterflies and moths (Macrolepidoptera) from distribution patterns and species characteristics. *J. Insect Conserv.* 11, 367–390.
- Fynn-Aikins, K., Bowser, P. R., Honeyfield, D. C., Fitzsimons, J. D. & Ketola, H. G. 1998. Effect of dietary amprolium on tissue thiamin and Cayuga syndrome in Atlantic salmon. *Trans. Am. Fish. Soc.* 127, 747–757.
- Förlin, L. 2017. Effektstudier, fiskhälsa och miljöövervakning. Denna rapport.

- Gerell, G. 1976. Fågellivet i mellersta Blekinges skärgård förr och nu. *Blek. Nat.* 1976, 125–140.
- Gibson, G. E., Ksiazak-Reding, H., Sheu, K.-F. R., Mykytyn, V. & Blass, J. P. 1984. Correlation of enzymatic, metabolic and behavioral deficits in thiamin deficiency and its reversal. *Neurochem. Res.* 9, 803–814.
- Giguère, J.-F. & Butterworth, R. F. 1987. Activities of thiamine-dependent enzymes in two experimental models of thiamine deficiency encephalopathy: 3. Transketolase. *Neurochem. Res.* 12, 305–310.
- Hallmann C. A. et al. 2017. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLoS ONE* 10, PLoS ONE 12, e0185809, 10.1371/journal.pone.0185809
- Halver, J. E. 2002. The vitamins. In: *Fish Nutrition* (eds. Halver, J. E. & Hardy, R. W.), Academic Press, 61–141.
- Hamada, S. et al. 2013. Thiamine deficiency induces massive cell death in the olfactory bulbs of mice. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 72, 1193–1202.
- Harata, N. & Iwasaki, Y. 1995. Evidence for early blood-brain barrier breakdown in experimental thiamine deficiency in the mouse. *Metab. Brain Dis.* 10, 159–174.
- Héroux, M. & Butterworth, R. F. 1988. Reversible alterations of cerebral  $\gamma$ -aminobutyric acid in pyriethamine-treated rats: Implications for the pathogenesis of Wernicke's encephalopathy. *J. Neurochem.* 51, 1221–1226.
- Hoffmann, M. et al. 2010. The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science* 330, 1503–1509.
- Honeyfield, D., Tillitt, D. E. & Fitzsimons, J. D. 2009. Complexities of thiamine deficiency in aquatic organisms, *Journal of Aquatic Animal Health* 21(4).
- Kennedy, D. O. 2016. B vitamins and the brain: mechanisms, dose and efficacy—A review. *Nutrients* 8, 68.
- Lê, O., Héroux, M. & Butterworth, R. F. 1991. Pyriethamine-induced thiamine deficiency results in decreased  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent release of glutamate from rat hippocampal slices. *Metab. Brain Dis.* 6, 125–132.
- Leong, D. K., Le, O., Oliva, L. & Butterworth, R. F. 1994. Increased densities of binding sites for the "peripheral-type" benzodiazepine receptor ligand [3H]PK11195 in vulnerable regions of the rat brain in thiamine deficiency encephalopathy. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 14, 100–105.
- Manzetti, S., Zhang, J. & van der Spoel, D. 2014. Thiamin function, metabolism, uptake, and transport. *Biochemistry* 53, 821–835.
- McCandless, D. W., Schenker, S. & Cook, M. 1968. Encephalopathy of thiamine deficiency: Studies of intracerebral mechanisms. *J. Clin. Invest.* 47, 2268–2280.
- McDonald, G., Fitzsimons, J. D. & Honeyfield, D. C. (eds.) 1998. Early life stage mortality syndrome in fishes of the Great Lakes and Baltic Sea, American Fisheries Society, Symposium 21.
- McLellan, R. et al. 2014. *Living Planet Report 2014*. WWF International.
- Mimouni-Bloch, A. et al. 2014. Thiamine deficiency in infancy: Long-term follow-up. *Pediatr. Neurol.* 51, 311–316.

- Mörner et al. 2017. Thiamine deficiency impairs common eider (*Somateria mollissima*) reproduction in the field. *Sci. Rep.* 7, 14451.
- Nilsson, S.G., Franzén, M. & Jönsson, E. (2008) Long-term land-use changes and extinction of specialised butterflies. *Insect Conserv. Diver.* 1, 197–207.
- Olsson, J. 2017. Ekosystemet i Hanöbukten – vad säger tillgängliga miljöövervakningsdata om områdets tillstånd? Denna rapport.
- Paleczny, M., Hammill, E., Karpouzi, V. & Pauly, D. 2015. Population trend of the world's monitored seabirds, 1950–2010. *PLoS ONE* 10, e0129342, 10.1371/journal.pone.0129342.
- Parker, W. D. et al. 1984. Brain mitochondrial metabolism in experimental thiamine deficiency. *Neurology* 34, 1477–1481.
- Rockström, J. et al. 2009. A safe operating space for humanity. *Nature* 461, 472–475.
- Roth-Maier, D. A., Kirchgessner, M. & Rajtek, S. 1990. Retention and utilization of thiamin by gravid and non gravid rats with varying dietary thiamin supply. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 60, 343–350.
- Roth-Maier, D. A., Trübswetter, N., Stangl, G. I. & Kirchgessner, M. 1997. Dietary thiamin supply during lactation influences thiamin status in lactating rats and their offspring and the thiamin level in milk. *Z. Ernährungswiss.* 36, 169–175.
- Sepúlveda, M. S. et al. 2004. Organochlorine pesticides and thiamine in eggs of largemouth bass and American alligators and their relationship with early life-stage mortality. *J. Wildlife Dis.* 40, 782–786.
- Svedäng, H & Hornborg, S. 2017. Historic changes in length distributions of three Baltic cod (*Gadus morhua*) stocks: Evidence of growth retardation. *Ecol. Evol.* 7, 6089–6102.
- Tanzer, J. et al. 2015. Living Blue Planet Report 2015. WWF International.
- Vredenburg, V. T., Knapp, R. A., Tunstall, T. S. & Briggs, C. J. 2010. Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extinctions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 9689–9694.
- Wood, B. et al. 1980. A study of partial thiamin restriction in human volunteers. *Am. J. Clin. Nutr.* 33, 848–861.
- Xu, Z.-P., Wawrousek, E. F. & Piatigorsky, J. 2002. Transketolase haploinsufficiency reduces adipose tissue and female fertility in mice. *Mol. Cell. Biol.* 22, 6142–6147.
- Zhao, Y. et al. 2014. Downregulation of transketolase activity is related to inhibition of hippocampal progenitor cell proliferation induced by thiamine deficiency. *BioMed Res. Int.* 2014, 572915, 10.1155/2014/572915.
- Åkerman, G. & Balk, L. 1998. Descriptive studies of mortality and morphological disorders in early life stages of cod and salmon originating from the Baltic Sea. *Am. Fish. Soc. Symp.* 21, 41–61.
- Öckinger, E., Eriksson, A. K. & Smith, H. G. 2006a. Effects of grassland abandonment, restoration and management on butterflies and vascular plants. *Biol. Conserv.* 133, 291–300.
- Öckinger, E., Hammarstedt, O., Nilsson, S. G. & Smith, H. G. 2006b. The relationship between local extinctions of grassland butterflies and increased soil nitrogen levels. *Biol. Conserv.* 128, 564–573.