



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap

Finns det en effekt av miljögifter på thyroidea hos svenska gråsälar?

Do environmental toxins affect the thyroid gland in Swedish grey seals?



Linnea Östermark

Uppsala

2020

Finns det en effekt av miljögifter på thyroidea hos svenska gråsälar?

Do environmental toxins affect the thyroid gland in Swedish grey seals?

Linnea Östermark

Handledare: Sara Persson, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examinator: Ulf Magnusson, Institutionen för kliniska vetenskaper

Examensarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 30 hp

Nivå och fördjupning: Avancerad nivå, A2E

Kurskod: EX0869

Kursansvarig institution: Institutionen för kliniska vetenskaper

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2020

Elektronisk publicering: <https://stud.epsilon.slu.se>

Omslagsillustration: Thomas Bonometti

Nyckelord: säl, thyroidea, miljögifter

Key words: seal, thyroid, environmental toxins

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för kliniska vetenskaper

SAMMANFATTNING

Miljögifter anses vara bland de största hoten mot sälpopulationen i Sverige. Under 1980-talet drabbades gråsäl i Östersjön hårt av höga halter polyklorerade bifenyler (PCB) och diklordifenyltrikloretan (DDT) i den marina miljön. Under senare år har halterna av de miljögifterna minskat, medan andra kemiska substanser har ökat. Även om gråsälpopulationen i Östersjön idag bedöms vara stabil, är gråsäl extra känslig för bioackumulerande miljögifter i sin roll som marin toppredator. På uppdrag av Naturvårdsverket har Naturhistoriska riksmuseet (NRM) ett miljöövervakningsprojekt för att kunna kartlägga vilken miljögiftspåverkan den svenska gråsäl utsätts för. Målet med den här studien var att i litteraturen undersöka vilken effekt miljögifter skulle kunna ha på thyroidea hos gråsäl, ett hormonproducerande organ som visat sig kunna påverkas negativt av olika miljögifter hos andra djurslag. Målet var också att undersöka hur eventuella miljögiftseffekter på thyroidea hos gråsäl skulle kunna upptäckas inom den miljöövervakning som görs på Naturhistoriska riksmuseet.

I studien har medelvikten av thyroidea från 716 gråsäl använts för att undersöka samband med kroppslängd, kroppsvikt och hjärtvikt, samt för att sätta i relation till 716 gråsälars kroppslängd som inkommit till NRM, för att kunna utreda vad som kan klassas vara normalvikt för thyroidea hos gråsäl. Utifrån detta har ett antal individer med avvikande thyroideavikt identifierats, vilka sedan har undersökts histologiskt och ställts i relation till normalviktiga thyroidea och thyroidea tillhörande sälar från 1980-talet. Medelvikten av thyroidea hos sälar från 1980-talet och från 2010-talet har också jämförts med varandra. Några gråsäl vars thyroeor var makroskopiskt förändrade enligt obduktionsjournalen inkluderades även de i studien, liksom vävnadsprover som tidigare varit frysta för att kunna utvärdera huruvida frysta vävnadsprover blir av tillräckligt god kvalitet för att kunna undersökas histologiskt.

Resultatet som erhöles visar inte på något samband mellan patologiska förändringar i thyroidea histologiskt och organmedelvikten eller om sälen obducerats under 1980-talet. Däremot har referensmaterial framtagits gällande vad som kan anses vara normalvikt för thyroidea hos gråsäl i relation till sälens kroppsvikt. Andra faktorer, såsom årstid, späcktjocklek och kön visade sig ha mindre eller ingen påverkan på thyroideavikten. Thyroideamedelvikten i relation till kroppslängden var dessutom statistiskt signifikant högre hos de sälar som obducerats under 1980-talet jämfört med senare år, något som eventuellt skulle kunna tyda på en miljögiftspåverkan av PCB, då PCB experimentellt har kunnat öka thyroideavikten hos försöksdjur.

Sammantaget tycks miljögifter kunna ha en rad negativa och komplexa effekter på thyroidea och dess hormoner genom att bland annat påverka receptorn för thyroideahormon, transportproteiner i blodet, hämma enzymaktiviteter, interferera med utsöndringen av thyroideahormon och förändra thyroideas struktur mikroskopiskt. I denna studie kunde inte någon tydlig koppling göras mellan histologiska förändringar och miljögifter. Däremot har NRM stora möjligheter för att i framtiden grundligare kunna utvärdera ett eventuellt samband mellan miljögifter och thyroideapåverkan hos säl, genom att till exempel korrelera thyroideahormonhalter med miljögiftshalter.

SUMMARY

Environmental pollutants are considered to be one of the greatest threats against the seal population in Sweden. During the 1980's, the grey seals in the Baltic Sea were heavily affected by high concentrations of PCB (polychlorinated biphenyls) and DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) in the environment. During the latest decades, these pollutants have decreased in the Baltic Sea, while other chemical substances have increased. Even though the grey seal population in Sweden is now considered to be stable, the grey seals are still particularly exposed to bioaccumulating pollutants since they are on the top of the food chain. The Swedish Museum of Natural History (NRM) has been assigned by the Swedish Environmental Protection Agency to monitor the seal population in Sweden, in order to detect what impact pollutants might have on these animals. The aim of this study was to use scientific literature to evaluate whether pollutants may have any impact on the thyroid gland, a hormone producing organ, in grey seals. Another objective was to investigate whether possible effects of environmental pollutants could be detected within the national environmental contaminant monitoring that is done by the NRM.

In this study, the average weight of the thyroid gland has been compared to the body length of 716 grey seals that has been examined by the NRM, in order to determine what should be considered a normal weight of the thyroid gland in grey seals. Based on this comparison, some individuals with abnormal thyroid weight have been identified and examined histologically. The thyroid of these individuals have then been compared to normal weight thyroid glands and thyroid glands belonging to seals that were autopsied during the 1980's. The average weight of the thyroid gland has also been compared between seals from the 1980's and seals from the 2010's. Thyroids that were macroscopically altered were also included in the study, as well as thyroid tissue samples that previously had been frozen, in order to determine whether frozen samples are suitable for histological examination.

The results from this study does not indicate any relationship between pathological changes in the thyroid gland and the organ average weight or if the seal had been necropsied during the 1980's. However, reference material has been developed regarding what may be considered a normal weight for the thyroid gland among grey seals in relation to their body length. Other factors, like season, blubber thickness or sex, seemed to have little or no effect on the thyroid weight. Nevertheless, the average weight of the thyroid in relation to the body length was shown to be significantly higher among seals from the 1980's compared to those from the 2010's – something that might indicate an impact of the environmental pollutant PCB, since PCB experimentally has been shown to increase the thyroid weight among laboratory animals.

In summary, environmental pollutants seem to have a number of destructive and complex effects on the thyroid gland and its hormones, for instance by affecting the thyroid receptor, thyroid transport hormones, inhibiting enzyme activities, interfering with the elimination of thyroid hormones and altering the microscopic structure of the thyroid gland. In this study, no association could be found between histological changes and environmental pollutants. However, the Swedish Museum of Natural History has great future potential to evaluate any relationship between environmental pollutants and the thyroid gland in seals, by, for example, correlating thyroid hormone levels and levels of different environmental pollutants.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

INLEDNING	1
LITTERATURÖVERSIKT	2
Sälen som nyckelart	2
Situationen i Östersjön	3
Skadliga ämnen i den marina biotan	4
Polyklorerade bifenyler (PCB)	4
Perfluorerade alkylsyror (PFAS)	4
Bromerade flamskyddsmedel (PBDE)	5
Thyroidea ur ett miljöperspektiv	6
Sköldkörtelns funktioner och uppbyggnad	6
Miljögifters inverkan på thyroideas funktion	6
Miljögifters inverkan på thyroideavikten	8
Andra faktorer som kan ha ett samband med thyroideastorleken	9
Kroppsvikt och kroppslängd	9
Patologiska tillstånd	9
Årstid och temperatur	10
Kön	10
MATERIAL OCH METOD	11
Naturhistoriska riksmuseets övervakning av gråsäl	11
Statistisk undersökning	11
Thyroideavikt relativt kroppsstorlek	11

Thyroideavikt under 1980-talet	11
Histologisk undersökning	12
RESULTAT	14
Förhållande mellan thyroideavikt och kroppsstorlek	14
Individer 1 år och äldre	15
Kutar	16
Övriga faktorer	17
Thyroideavikt under 1980-talet	17
Histologiska fynd	18
Follikeltäthet och follikelstorlek	21
DISKUSSION	23
Thyroideavikt – samband och betydelse	23
Histologisk bedömning	25
Follikeljämforelse	27
KONKLUSION	28
POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING	29
Utförande	29
Resultat & diskussion	29
TACK	31
REFERENSER	32

INLEDNING

I samband med att sälpopulationen i Östersjön drastiskt minskade under 1970-talet och sedan inte återhämtade sig efter att jakten upphört började Naturhistoriska riksmuseet samla in gråsäl, knobbsäl och vikare för att undersöka bakomliggande orsaker till minskningen. Livmoderförändringar i form av sammanväxningar och stenoser, samt en rad andra sjukliga förändringar såsom livmodertumörer, binjurebarksförtjockning, njurskador, skelett- och hudförändringar, hittades hos flertalet insamlade djur, särskilt gråsäl. Sjukdomskomplexet som observerades hos sälarna kallas idag Baltic Seal Disease Complex och misstänktes ha en koppling med höga halter av miljögifterna PCB och DDT. Förekomsten av förändringarna som upptäcktes på sälarna har sedan dess minskat, liksom halterna av PCB och DDT i Östersjön, och gråsälpopulationen har återhämtat sig väl (Bäcklin *et al.*, 2017). Att regelbundet undersöka och obducera sälar från Sveriges kuster har efter detta blivit ett sätt att tidigt upptäcka tecken på patologiska förändringar som skulle kunna indikera ökade miljögiftshalter i den marina miljön.

Sköldkörteln, eller thyroidea, är ett organ som hormonellt är med och reglerar en rad livsviktiga funktioner i kroppen, såsom metabolism och normal utveckling av nervsystemet. Eftersom ett flertal miljögifter potentiellt har en hormonstörande effekt, innebär det att studier kring sköldkörtelsystemet är högst relevant när det kommer till att utreda på vilka sätt miljögifter kan påverka kroppens mekanismer. Hormonstörande ämnen kan interferera med den normala funktionen genom att binda in till receptorer, störa produktionen, frisättningen eller elimineringen av hormoner (Kemikalieinspektionen, 2012), vilket har undersökts för bland annat miljögifterna PCB, PFAS och PBDE för ett antal djurslag inklusive säl (exempelvis Brouwer *et al.*, 1989; Zhou *et al.*, 2001; Tabuchi *et al.*, 2006 och Bourgeon *et al.*, 2017).

Målsättningen med denna studie är att undersöka hur eventuella miljögiftseffekter på thyroidea hos gråsäl skulle kunna upptäckas inom den miljöövervakning som görs på Naturhistoriska riksmuseet. Genom att jämföra den relativa thyroideavikten mellan gråsäl som inkommit till Naturhistoriska riksmuseet de senaste decennierna och utifrån det identifiera avvikande individer, är förhoppningen att kunna få en djupare förståelse för vad som skulle kunna anses vara en normal thyroideastorlek hos gråsäl. Med detta som grund kan därefter potentiella anledningar till varför vissa individer avviker undersökas, med fokus på olika miljögifter som förekommer i Östersjön. Att thyroideastorleken kan påverkas av miljögifter har tidigare uppmärksamats hos försöksdjur (Jefferies & French, 1969; Sonstegard & Leatherland, 1979), men sambandet har aldrig studerats hos gråsäl. Via histologisk undersökning av ett antal thyroideapreparat från gråsäl ges dessutom möjlighet till en mer ingående undersökning av vilka variationer hos thyroidea som kan förekomma hos gråsäl mikroskopiskt.

LITTERATURÖVERSIKT

Sälen som nyckelart

Sedan mitten på 1970-talet har Naturhistoriska riksmuseet övervakat populationen av gråsäl, knobbsäl och vikare i Sverige genom att obducera sälar som fastnat och drunknat i fiskeredskap eller självdött av andra orsaker. De får också in prover från säljakten varje år (Bäcklin *et al.*, 2010). Att regelbundet undersöka sälar är en bra metod för att följa miljögifters effekt i den akvatiska miljön och dess biologiska mångfald, då sälen anses vara en nyckelart i Östersjöns ekosystem. En nyckelart lever ofta i toppen av näringskedjan och förlusten av en sådan art skulle potentiellt förändra hela ekosystemet i grunden. Eftersom Östersjön är ett artfattigt hav blir nyckelarterna desto viktigare (Baltic Eye, 2015). Många miljögifter har dessutom förmågan att bioackumuleras i levande organismer, vilket innebär att gifterna kan upplagras till halter flera hundra gånger högre i levande vävnad jämfört med omgivningen. Ju högre upp ett djur befinner sig i näringskedjan, desto mer utsatta är de för bioackumulerande miljögifter eftersom kroppen inte klarar av att eliminera de svårnedbrytbara föreningar toppkonsumenterna får i sig från bytesdjuren. Detta fenomen kallas för biomagnifikation, vilket innebär att ett ämne anrikas längs näringskedjan (Wizelius, 1999). Detta sammantaget gör sälens hälsostatus till en viktig indikator när det kommer till att upptäcka förändringar i Östersjöns ekosystem och i övervakningen av miljögifter i den marina miljön.

I Sverige finns det tre sälarter – gråsäl, knobbsäl och vikare. De hör alla till familjen öronlösa sälar, eller egentliga sälar som de också kallas, inom gruppen Pinnipedia. Gråsälen, *Halichoerus grypus*, är den största av våra tre sälarter. Dess utbredning i Sverige är främst belägen längst med Östersjökusten, men ett mindre bestånd finns också på västkusten. Förutom i Sverige förekommer stora populationer av gråsäl i andra delar av norra Atlanten såsom Kanada, Island, Norge och de Brittiska öarna. I början av 1900-talet estimerades gråsälsbeståndet i Östersjön till nästan 100 000 individer, men på grund av hård jakt och miljögiftsbelastning reducerades antalet individer ner till endast 3000-4000 djur på 1970-talet, med direkt följd att gråsälen då klassades som akut hotad (ArtDatabanken, 2019a). Utöver jakten som påverkade populationen negativt, misstänktes dessutom miljögifterna PCB och DDT ge upphov till reproduktionsstörningar i form av sammanväxningar i livmoderhornen hos honorna, vilket i många fall resulterade i sterilitet. Sedan 1980-talet har bestånden successivt ökat tack vare minskade halter av PCB och DDT i miljön och gråsälen bedöms idag som livskraftig (Roos *et al.*, 2012).

Gråsälens föda består huvudsakligen av fisk och kräftdjur, men de kan även äta musslor och snäckor. Spannet av arter som konsumeras är brett och varierar dessutom över året utifrån tillgång och behov (Bowen & Harrison, 1994; Tverin *et al.*, 2019). Mängden konsumerad fisk uppskattas till att ligga mellan fyra till sju kilo per dag, men kan även ligga en bra bit över 10 kg (Königson *et al.*, 2005). Konsumtionen varierar dessutom utifrån flera faktorer såsom ålder, årstid och geografiskt läge (Lundström *et al.*, 2007; Kroner *et al.*, 2018). Vuxna gråsälar behöver dock inte äta varje dag utan kan fasta under långa perioder i samband med reproduktionen och under pälsbytet (ArtDatabanken, 2019a).

Till skillnad från knobbsäl och vikare är storleksskillnaden mellan en gråsälshane och gråsälshona stor – en fullvuxen hane kan väga så mycket som upp till 300 kg, medan honor ofta inte väger mer än 200 kg. De blir könsmogna vid 3-7 års ålder och kan leva så länge som 35-40 år.

Honorna föder en kut om året under perioden februari till och med mars. De flesta födslarna sker på isen, men de år då tillgången till havsis är sparsam sker även flertalet på land. Under digivningen, som varar mellan två till tre veckor, kan honan tappa 40-50 procent av sin totalvikt. I slutet av digivningsperioden parar sig honan på nytt (Almqvist *et al.*, 1980; Havs- och vattenmyndigheten, 2012; ArtDatabanken, 2019a).

Knubbsälen, *Phoca vitulina*, förekommer främst i Kattegatt och Skagerrak men det finns en population även på östkusten (runt Kalmarsund). Kutarna föds i juni månad, till skillnad från gråsälen som föder sina ungar tidigare under året. Storleksmässigt är knubbsälen betydligt mindre än gråsälen och väger i genomsnitt mellan 60-80 kg (ArtDatabanken, 2019b). 1988 och 2002 drabbades knubbsälsstammen på västkusten av kraftiga utbrott av sälpest (Phocine Distemper Virus, PDV), vilket resulterade i att nästan 50 procent av bestånden slogs ut. Sedan dess har bestånden återhämtat sig och hade därefter en normal tillväxt på ungefär 12 procent per år (Bäcklin *et al.*, 2010).

Vikaren, *Pusa hispida*, är den minsta av Sveriges sälararter och populationen i Östersjön uppskattas till ungefär 20 000 individer (Havs- och vattenmyndigheten, 2019). Vikaren är beroende av havsisen för sin reproduktion, då honorna krasar ut snögrottor under perioden februari-mars för att nyttja som skydd till kuten under digivningen (ArtDatabanken, 2019c).

Situationen i Östersjön

Östersjön är ett innanhav som är beläget i norra Europa och omges nästan helt av länder; Danmark och Sverige i väst, Finland, Estland, Lettland, Litauen och Ryssland i öst samt Polen och Tyskland i söder. Av dessa länder har Sverige den absolut längsta angränsande kuststräckan till Östersjön. Enda förbindelsen med världshaven sker via de danska sunden och Västerhavet, där saltvatten har möjlighet att strömma in. Samtidigt rinner stora volymer sötvatten in via älvar och floder. Detta gör att salthalten i ytvattnet skiljer sig markant mellan norra och södra Östersjön – från ca 25 promille i söder till knappt 3 promille i norr. De stora variationerna skapar en bräckt vattenmiljö få marina arter klarar av att leva i, vilket resulterar i ett ekosystem med låg biologisk mångfald. Detta gör att Östersjön har låg motståndskraft mot yttre störningar och generellt är ett känsligt hav (Korpinen *et al.*, 2012; BalticSea, 2019).

Östersjön är under hård antropogen belastning – sjöfart, fiske, industrier, jordbruk, skogsbruk och turism resulterar i övergödning, överexploatering, spridning av giftiga miljöföroreningar och läkemedelsrester, oljeutsläpp, nedskräpning och klimatförändringar (Havet.nu, 2019). Enligt HELCOM (Helsingforskonventionen) är troligen övergödning det största hotet mot miljön i Östersjön. Övergödning uppstår genom överdriven användning av näringsämnen inom jordbruk och industri vilka tillslut hamnar i den akvatiska miljön (HELCOM, 2009). Följden blir stora områden med syrefattiga bottnar där mycket få arter klarar av att leva (SMHI, 2017). I och med att enda inflödet av saltvatten sker genom en smal passage tar det över 30 år att byta ut allt vatten i Östersjön. Denna långsamma vattenomsättning medför att Östersjön är extra känsligt för övergödning (Baltic Eye, 2015).

Utöver övergödning har Östersjön haft problem med olika miljögifter sedan decennier tillbaka. Många farliga ämnen är svårnedbrytbara och ackumuleras i levande organismer eller hamnar i

bottensedimenten, vilket gör att deras uppehållstid i miljön förlängs. Som tidigare nämnts stötte bland annat gråsälpopulationen på stora utmaningar på 1970-talet i och med höga halter PCB och DDT i den marina miljön. I samband med att ämnenas förödande effekter uppmärksammades, förbjöds också användningen i Sverige och halterna har sedan dess gradvis minskat (Nyberg *et al.*, 2015). Samtidigt som vissa äldre erkända miljögifter avvecklas, introduceras nya, relativt okända ämnen hela tiden till havsmiljön. Detta inkluderar bland annat högflourerande ämnen, flamskyddsmedel, mikroplaster, nanopartiklar och läkemedel. Effekterna av de otaliga kemiska substanser och partiklar som konstant tillkommer till Östersjön är till stor del ännu okända trots stora forskningsinsatser. Sammanfattningsvis är Östersjön ett hav som är särskilt utsatt för mänsklig påverkan. Stora insatser kommer att krävas för att uppnå en hållbar situation där människa och miljö kan samexistera utan att det sker på bekostnad av naturen.

Skadliga ämnen i den marina biotan

Polyklorerade bifenyler (PCB)

PCB, eller polyklorerade bifenyler, är en grupp svårnedbrytbara organiska föreningar med miljö- och hälsoskadliga effekter. De började användas och tillverkas på 1930-talet inom en rad olika industrier i form av isolering, färg, självkopierande papper och transformatorer. Ämnenas kemiska och fysiska egenskaper var eftertraktade inom industrin, men då de både är lipofila och resistenta mot nedbrytning medför det även mindre önskvärda konsekvenser miljömässigt (Borja *et al.*, 2005). Miljöns oförmåga till att bryta ner dessa ämnen resulterar i att de persisterar i miljön. Enligt Sinkkonen och Paasivirta (2000) uppskattas halveringstiden av PCB i miljön till mellan 10 och 20 år. I och med att PCB är fettlösligt ackumuleras det dessutom i fettväv hos levande organismer och anrikas uppåt i näringskedjan. Otaliga toxiska effekter av PCB har uppmärksammats – bland annat verkar ämnena cancerogent, reproduktionsstörande, immunosuppressivt och kan ge upphov till endokrina rubbningar (Ross, 2004).

Halterna av PCB i havsmiljön har sedan lång tid tillbaka påverkat sälpopulationen i Östersjön negativt. Omkring 40 procent av vikare som obducerades i en studie under 1970-talet, då PCB-halterna var som högst i omgivningen, uppvisade patologiska livmoderförändringar. Ocklusioner och stenoser i livmoderhornen förhindrade sälarna från att ha en normal dräktighet (Helle *et al.*, 1976). Eftersom PCB förs över till modersmjölken blir även kutarna exponerade under digivningen trots att de inte själva äter fisk, något som kan resultera i en negativ påverkan på kutarnas utveckling redan från tidig ålder (Debier *et al.*, 2003). I en studie av Brouwer *et al.* (1989), där knobbsäl fick konsumera fisk med hög respektive låg halt av PCB, hade de säl som exponerats för högre halt en lägre plasmakoncentration av thyroideahormoner jämfört de som fått fisk med lägre PCB-innehåll. Mycket tyder därför på att säl skulle kunna påverkas av mängden PCB i miljön.

Perfluorerade alkylsyror (PFAS)

PFAS är ett samlingsnamn för en grupp på över 3000 högfluorerade kemiska ämnen som på senare år uppmärksammats allt mer. PFAS-ämnen är smuts-, fett- och vattenavvisande, vilket anses vara attraktiva egenskaper inom många användningsområden. Det kan förklara varför de förekommer i en mängd olika konsumentprodukter – kläder, pizzakatonger, smink, rengöringsmedel, impregneringsmedel, bekämpningsmedel och brandsläckningsskum bara för att nämna

några (Svenskt Vatten, 2015). PFOS (perfluoroktansulfonat) och PFOA (perfluoroktansyra) är de två ämnena inom gruppen som är vanligast förekommande. Då naturen är oförmögen att bryta ner PFOS, varken genom kemiska eller biologiska processer, resulterar det i ett mycket stabilt ämne som kan persistera extremt länge i miljön (Kemikalieinspektionen, 2016).

Det är inte bara i miljön perfluorerande ämnen ansamlas, utan de bioackumuleras dessutom i levande organismer. Dess biokinetiska egenskaper har undersökts i en mängd forskningsrapporter, bland annat i en studie av Li *et al.* (2018) där halveringstiden hos olika PFAS-ämnen uppskattades hos människor som exponerats för PFAS via dricksvattnet. Där bedömdes halveringstiden variera mellan ca 3 till 5 år – vissa mer svårnedbrytbara än andra. Till skillnad från andra organiska miljögifter ackumuleras inte PFAS i fettväv utan binder istället till proteiner i blodet, något som resulterar i höga halter i framförallt lever, njurar och galla (Jones *et al.*, 2003). Vidare har ämnena påvisats i en mängd typer av biota, till och med på mycket avlägsna platser såsom Arktis och Grönland (Martin *et al.*, 2004; Smithwick *et al.*, 2005), vilket tyder på en världsomfattande spridning. Flertalet toxikologiska effekter har rapporterats till följd av PFAS-exponering, såsom immunotoxicitet, tillväxtrubbningar, ökad tumörbildningsrisk, endokrina rubbningar och neurotoxicitet (DeWitt, 2015).

Eftersom sälen befinner sig på toppen av den marina näringskedjan är de extra utsatta för miljögifter som PFAS. I en studie av Galatius *et al.* (2013) uppvisade knobbsälen högre nivåer av PFAS i levern jämfört med vitnosdelfiner och tumlare i Nordsjön, vilket stämmer överens med annan forskning där bland de högsta koncentrationerna uppmätts just hos säl (Bossi *et al.*, 2005; Ahrens *et al.*, 2009). En förklaring till detta kan vara skillnader i födointag och metabolism hos olika marina toppredatorer. Bossi *et al.* (2005) visade också på en successiv ökning av PFOS-koncentrationer i sällever mellan 1986 och 2003 och Roos *et al.* (2019) fann att ett flertal PFAS-ämnen ökade med 5-9 % per år hos knobbsäl från Östersjön mellan 1978 och 2015. Troligen förs även PFAS över från modern till kuten via modersmjölken och/eller placentan, då betydligt högre halter uppmätts i kutar jämfört med vuxna djur (Shaw *et al.*, 2009). Därmed utsätts sälarna för PFAS-föreningar redan mycket tidigt i livet.

Bromerade flamskyddsmedel (PBDE)

Bromerade flamskyddsmedel är ytterligare en grupp kemiska substanser som anses vara ett växande problem ur miljöperspektiv. Gruppen liknar strukturellt PCB och DDT, vilket gör att de har liknande kemiska egenskaper – de både bioackumuleras och persisterar i miljön (Rahman *et al.*, 2001). Det finns hundratals olika flamskyddsmedel med varierande toxicitet, där PBDE är en samlingsbeteckning för ett antal bromerade flamskyddsmedel som anses ha en särskilt omfattande miljöpåverkan. De tillsätts till olika material för att fördröja eller hindra spridningen av en brand, till exempel textilier, plaster, möbler, isoleringsmaterial och elektronisk utrustning. Spridningen av PBDE till miljön är stor eftersom de lätt läcker från produkterna de används till (Kemikalieinspektionen, 2019; Naturvårdsverket, 2019).

Redan på 1980-talet kunde PBDE hittas i en mängd olika arter i Sverige; bland annat sillgrissla, stare, älg, gråsäl, vikare, brax, gädda, abborre och lax, varav gråsäl uppvisade bland de högsta halterna (Sellström *et al.*, 1993). De högsta koncentrationerna geografiskt sett uppmättes i södra Östersjön. Sedan dess verkar halterna ökat ytterligare hos marina toppredatorer fram till 2000-

talet, då trenden vände med successivt minskade halter därefter (Rotander *et al.*, 2012). Liksom PCB verkar bromerande flamskyddsmedel påverka thyroidea och dess funktion. Experimentella studier på försöksdjur har påvisat ett negativt samband mellan thyroideahormoner och PBDE-serumkoncentrationer (Hallgren *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2001), medan studier utförda på unga vilda sälar visat en motsatt korrelation – de sälar som hade hög halt PBDE hade större sköldkörtelaktivitet i form av ökat T4 och T3 i serum (Hall *et al.*, 2003; Hall & Thomas, 2007).

Thyroidea ur ett miljöperspektiv

Sköldkörtelns funktioner och uppbyggnad

Sköldkörteln, eller thyroidea, är en endokrin körtel som består av två lobber som är lokaliserade på var sida om trachea, strax under larynx. Hos säl är de två loberna inte sammankopplade, utan benämns som höger och vänster lob. Loberna är ofta i relativt samma storlek, men hos vissa individer kan skillnaden vara stor (Harrison *et al.*, 1962). Sköldkörtelns uppgifter är att reglera kroppens metabolism, bidra till normal tillväxt och utveckling av skelettet, medverka i att styra det sympatiska nervsystemet och att uppehålla en normal funktion av CNS och gonader. Thyroidea producerar tre olika hormoner: thyroxin (T4), trijodthyronin (T3) och kalcitonin. De två förstnämnda syntetiseras och lagras i thyroideas folliklar i en proteinrik vätska som kallas kolloid. För syntesen krävs jod och tyrosin, vilket gör att intag av jod via födan är väsentligt för en normal sköldkörtelfunktion.

Thyroidea är uppbyggd av en mängd sfäriska folliklar som varierar i storlek. Dess väggar består av follikelceller och i det lumen som uppstår i folliklarna lagras kolloiden, som fungerar som en extracellulär förvaring av thyroideahormoner. Mellan folliklarna finns bindväv som innehåller C-cellerna, eller de parafollikulära cellerna. De producerar kalcitonin som reglerar kalciumhalten i blodet. Follikelcellernas cellvägg innehåller thyreotropinreceptorer som binder thyroideastimulerande hormon (TSH). TSH produceras i hypofysen och stimulerar frisättning av T3 och T4 till blodet. TSH utsöndras i sin tur som ett svar på thyreotropinfrisättande hormonet (TRH) från hypotalamus.

Huvuddelen av thyroideahormonerna (TH) binds direkt till transportproteiner i blodet, vilket gör att det finns en stor cirkulerande reservoar av T4. Det minskar även förlusten av hormonerna ut i urinen. Det är bara den fria, icke-bundna delen som är biologiskt aktiv. Thyroideahormonerna binder sedan in till thyroideahormonreceptorn (TR) på målcellerna och påverkar deras genuttryck genom att fungera som en transkriptionsfaktor. På så sätt kan thyroidea reglera bland annat kroppens metabolism, hjärtfrekvens och utveckling. Thyroideahormoner är också med största sannolikhet med och påverkar när pälsbytet ska ske hos säl, genom att halterna ökar när pälsbytet initieras och minskar signifikant när fällningen är över (John *et al.*, 1987).

Miljögifters inverkan på thyroideas funktion

Ett flertal skadliga ämnen har påvisats kunna interferera med thyroideafunktionen i allt från hormonsyntesen till dess bindning till målreceptorerna. Att helt och hållet fastställa hur miljögifter påverkar sköldkörtelhormonsystemet kan dock anses vara nästintill omöjligt, eftersom de många olika inblandade hormonerna från thyroidea, hypofysen och hypotalamus och dess samspel uppvisar stor komplexitet. Detta ger miljögifter en mängd verkningsmekanismer att interagera med (Jugan *et al.*, 2010). Det faktum att sköldkörteln och dess hormoner är ett känsligt

system gör det extra utsatt för yttre påverkan och hormonstörande ämnen (Calsolaro *et al.*, 2017). Eftersom thyroidea är med och reglerar en mängd olika funktioner, såsom en normal utveckling av bland annat nervsystemet, kan konsekvenserna av att tyroideahomeostasen blir satt ur balans vara förödande. I en studie av Roegge *et al.* (2004) fick råttor en sämre motorik efter att ha blivit utsatta för PCB och metylkvicksilver, något som forskarna tror delvis kan vara en följd av den nedsatta thyroideafunktion råttorna fick efter exponeringen.

PCB är ett av de miljögifter som är mest studerade när det kommer till thyroideapåverkan. Verkningsmekanismerna bakom hur PCB stör sköldkörtelsystemet verkar vara flera. Strukturellt liknar PCB thyroideahormon och kan därmed binda irreversibelt in till andra molekyler, såsom thyroideahormonreceptorer (McKinney & Waller, 1994). När PCB binder in till TR hämmas transkriptionen i cellen som skulle skett normalt, vilket har påvisats vid exponering för PCB-blandningen Aroclor 1254, och flera hydroxylerade PCB-kongener (Miyazaki *et al.*, 2004). Hämmningen kan ske redan vid låga doser av PCB. Således sker troligen inte den största negativa påverkan av PCB direkt på sköldkörteln, utan perifert i vävnaden genom bland annat TR-inhibering. PCB kan också binda in till transthyretin och tyroxinbindande globulin, två av transportproteinerna TH är bundet till i blodet, med samma eller högre affinitet som T4 (Cheek *et al.*, 1999; Chauhan *et al.*, 2000).

I ett flertal studier (Brouwer *et al.*, 1989; Chiba *et al.*, 2001; Tabuchi *et al.*, 2006) har PCB påvisats minska nivåerna av TH i blodet hos sälar. I studien av Tabuchi *et al.* (2006) klassades sälarna till och med som hypothyroida. Villanger *et al.* (2013) hittade liknande korrelation hos unga kutar och deras mödrar, där PCB påverkade både T3 och T4 negativt hos kutarna, men endast T3 hos mödrarna – något som kan indikera en större sårbarhet hos unga djur. Mekanismerna bakom detta negativa samband är ännu ej helt klarlagda, men i och med att PCB kan binda in till TH-transportproteiner blockerar det thyroideahormonernas normala inbindning. Därmed förloras obundet TH ut i urinen via njurarna och halterna minskar. PCB verkar också kunna hämma enzymaktiviteten av deiodinase, som är väsentligt i syntesen av TH. Ytterligare en förklaring tros ligga i att PCB aktiverar ett leverenzym som ökar utsöndringen av T4 via gallan, vilket ger en minskad halveringstid av T4 i plasma (Preedy *et al.*, 2009).

I en studie av Routti *et al.* (2008) återfanns samma negativa korrelation mellan TH och långlivade organiska föroreningar hos vikare, men inte hos gråsäl. Där var TH-halterna istället förhöjda hos gråsälarna som hade högre halter miljögifter i levern. Skillnaden mellan arterna skulle kunna orsakas av en varierande fysiologi mellan arter eller av att sälarna hade olika nivåer av miljögifter. En förklaring till varför gråsälarna hade förhöjda TH-halter skulle enligt forskarna kunna vara att miljögifter såsom PCB kan orsaka hyperthyroidism, något som även Hall *et al.* (2003) diskuterar gällande PBDE. Vidare menar Hall *et al.* (2003) att det är möjligt att respon- sen från thyroidea kan se olika ut beroende på vilken dos sälarna utsätts för – ett fenomen som kallas hormesis, vilket innebär att när en organism exponeras för ett och samma toxin kan konsekvenserna av exponeringen variera beroende på vilken toxinmängd organismen utsätts för.

PCB har också direkta effekter på själva sköldkörteln, vilket demonstreras i experimentella studier hos råttor (Collins *et al.*, 1977; Pereira *et al.*, 2007) där minskade eller ojämna folliklar, vakuoler i follikelcellernas cytoplasma, hypertrofiska follikelceller, förlust av tyreoglobulin och interfollikulär fibros kunde ses histologiskt efter exponering för PCB. Likartade patologiska

förändringar, såsom ökad fibrotisering och minskad follikelstorlek, återfanns hos knobbsälar som hade levt i miljöer med höga PCB-halter (Schumacher *et al.*, 1993), vilket skulle kunna innebära att thyroidea hos säl påverkas på liknande sätt som råttor. Degenerativa förändringar av denna omfattning i thyroidea torde ha en negativ inverkan på normal sköldkörtelfunktion och syntes av thyroideahormoner.

Som tidigare nämnts (*se avsnitt "Bromerande flamskyddsmedel"*) kan PBDE, liksom PCB, påverka TH-homeostasen. Även de är strukturellt lika thyroideahormon och kan binda in till TH-transportproteiner, öka leverns utsöndring av T4 i gallan och påverka thyroideahormonreceptorn (Lema *et al.*, 2008). Affiniteten mellan PBDE och transportproteinerna (Morgado *et al.*, 2007) samt TR (Kitamura *et al.*, 2008) har dock visats variera mycket i experimentella studier, vilket får forskare att misstänka att det finns ytterligare verkningsmekanismer inblandade. Lema *et al.* (2008) påvisade att PBDE-exponering hos knölskallelöja kan interferera hypofysens syntes av TSH, vilket följaktligen ger reducerade T4-halter. Alltså kan PBDE påverka sköldkörtelhormonsystemet på flera nivåer. Vid histologiska undersökningar av thyroidea hos sparvfalk som exponerats för PBDE sågs inga effekter (Ferne *et al.* 2005). Inte heller i en studie på isbjörnar med påvisad PBDE i fettväven sågs något samband mellan patologiska förändringar och PBDE (Kirkegaard *et al.* 2005). På så sätt är det möjligt PBDE skiljer sig från PCB när det kommer till histologisk påverkan, även om ett samband inte helt kan uteslutas.

PFAS klassas även de som endokrinstyrande ämnen. Liksom för PCB och PBDE har en negativ effekt av PFAS-exponering på TH-halter rapporterats hos långsvansad makak, råttor och mus (Seacat *et al.*, 2002; Thibodeaux *et al.*, 2003). Även i studier på isbjörn (Bourgeon *et al.*, 2017) och människa (Berg *et al.*, 2015) har man funnit liknande samband. Chang *et al.* (2008) påvisade dock en höjning av fritt T4 efter oralt intag av PFOS hos råttor, medan totalt T4 (TT4) & T3 reducerades. Vidare menar Chang *et al.* att en förklaring till detta kan vara att PFOS kompetitivt binder in till TH-transportproteiner i serum, vilket resulterar i en större andel fritt T4. Hormonet blockeras samtidigt från att binda in till transportproteinet och förblir obundet, vilket gör att TT4 minskar. Vid histologisk undersökning av thyroidea har inga avvikande fynd kunnat identifieras efter attapor utsatts för PFOS (Seacat *et al.*, 2002).

Miljögifters inverkan på thyroideavikten

Utöver de flertalet interaktioner mellan miljögifter och TH-homeostasen som nämnts ovan, verkar också själva vikten på thyroidea kunna påverkas av olika miljögifter. Thyroideastorleken påverkas av en mängd faktorer, både inre och yttre, vilket kan medföra en svårighet i att fastställa ett samband mellan en enskild faktor och storleken på thyroidea (Riddle, 1929). Soukup *et al.* (2001) utförde en studie där råttor kemiskt inducerades till att antingen bli hypo- eller hyperthyroida, genom att hämma syntesen av eller tillsätta TH. Därefter jämfördes deras thyroideavikter med råttor som hade normal sköldkörtelstatus. De råttor med experimentellt framställd hypothyroidism hade både en relativt och absolut högre thyroideavikt, medan de hyperthyroida råttornas thyroidea gick i atrofi och fick en lägre relativ vikt jämfört med kontrollen. Resultatet stöds av Vargas *et al.* (1994), som på liknande sätt inducerat hypo- och hyperthyreos hos råttor vilka fick förändrad thyroideavikt som följd.

Miljögifter tycks kunna påverka thyroideastorleken genom en snarlik process. Sonstegard & Leatherland (1979) fann att råttor som fodrats med fisk innehållandes höga halter klororganiska föreningar blev hypothyroida, fick thyroideahyperplasi samt -hypertrofi, och en större thyroidea viktmissigt. Jefferies & French (1969) studerade även de hur miljögift kan påverka thyroideavikten genom att tillsätta DDT, ett persisterande och bioackumulerande miljögift, i fodret till duvor. Utgången blev en ökad thyroideavikt, thyroideahyperplasi och minskat kolloidinnehåll i folliklarna hos de duvor som exponerats för DDT. I artikeln spekulerar författarna kring vilka mekanismer som ligger bakom detta samband. En förklaring skulle kunna vara att DDT hämmar T4-halterna, vilket leder till en ökad TSH-frisättning från hypofysen och stimulerar därmed thyroidea till ökad hormonproduktion med hyperplasi som följd.

Andra faktorer som kan ha ett samband med thyroideastorleken

Kroppsvikt och kroppslängd

En individs kroppsvikt är en av de variabler som kanske har störst association till thyroideavikten, då man har kunnat korrelera kroppsvikten med thyroideavikten hos ett flertal djurslag, såsom råttor (Bailey *et al.*, 2004), gris (Haensly & Getty, 1970), flasknosdelfin (Turner *et al.*, 2006) och knubbsäl (Harrison *et al.*, 1962). Cowan & Tajima (2006) menar dock på att kroppslängd, snarare än kroppsvikt, är en bättre indikator när det kommer till relationen mellan individ- och thyroideastorlek hos flasknosdelfin, eftersom kroppslängden är konstant under djurens vuxna liv medan kroppsvikten kan variera kraftigt och därmed anses vara en mindre pålitlig faktor. Samtidigt har studier gjorda på människa, där individer med varierande BMI (Body Mass Index) jämförts, funnit att thyroideavolymen ökar med ett högre BMI och mängden kroppsfett (Gómez *et al.*, 2000; Sari *et al.*, 2003). Om liknande samband mellan späcklager och thyroideavikt finns hos säl är ännu ej klarlagt.

Patologiska tillstånd

Hypo- och hyperthyroidism är två tillstånd där individen har för låg respektive för hög produktion av thyroideahormoner. De bakomliggande orsakerna till varför thyroidea syntetiserar för lite eller för mycket TH är otaliga. Hos människa kan hypothyroidism vara en följd av bland annat onormal thyroideautveckling, autoimmunitet, defekter i hormonsyntesen, läkemedelsanvändning, jodbrist eller rubbningar i regleringen via hypofysen eller hypothalamus (Braverman & Cooper, 2012). Hyperthyreos hos människa kan också orsakas av autoimmunitet, men även av till exempel tyreoidit samt nybildningar i antingen thyroidea eller hypofysen (Neal, 2016). Huruvida sälar har motsvarande sjukdomsproblematik gällande hypo- och hyperthyroidism är oklart.

Dessa sjukdomstillstånd behöver ej direkt påverka thyroideastorleken, utan vilken påverkan som sker kan variera beroende på underliggande orsak. Hypo- eller hyperthyroidism är snarare benämningar på själva funktionen av thyroidea än dess struktur. Om en hyperthyreos orsakas av en tumör i thyroidea blir effekten naturligtvis en ökad thyroideavikt, men om tillståndet snarare är en följd av till exempel inflammation är sambandet inte lika självklart. I en studie av Carlé *et al.* (2009) undersöktes thyroideavolymen hos patienter med autoimmun hypothyroidism gentemot friska kontroller. Den hypothyroida gruppen hade en lägre thyroideavolymerelativt kontrollen, men hade också störst dispersion inom gruppen, vilket innebär att thyroidea-

storlek kan variera kraftigt till och med inom väldigt specifika tillstånd som autoimmun hypothyroidism.

Euthyroid sick syndrome är en benämning på ett tillstånd där sköldkörteln indirekt blir negativt påverkad av en pågående sjukdom någon annanstans i kroppen. Syndromet kan uppkomma när kroppen blir utsatt för till exempel svält eller kronisk sjukdom, och resulterar i låga TH-nivåer trots att själva grundproblematiken inte ligger i thyroidea. Till exempel har en minskad thyroideavikt påvisats hos patienter som avlidit till följd en svår kronisk sjukdomsprocess, medan samma förändring ej hittades hos de som dött akut (de Jongh *et al.*, 1997). Sköldkörtlar med relativt låga vikter återfanns även hos barn som varit kraftigt undernärda jämfört med barn med normal näringsstatus (Stirling, 1962). Det finns således en möjlighet att undernärda sälar eller de med kroniska sjukdomsprocesser på motsvarande sätt har en lägre thyroideavikt än de djur som bedömts vara friska och i normalhull.

Årstid och temperatur

Eftersom thyroidea är med och reglerar metabolismen, är det naturligt att sköldkörtelaktiviteten varierar med omgivande temperatur och därmed också årstid, eftersom metabolismen och kroppstemperaturen behöver regleras utifrån yttre förhållanden. När Hoffmann & Shaffner (1950) undersökte om temperaturen hade något samband med thyroideastorleken hos kycklingar, blev utfallet att kycklingar som hade vistats i låga temperaturer hade en högre thyroideavikt och de i höga temperaturer hade en lägre thyroideavikt – ett resultat av en högre thyroideaktivitet under kalla förhållanden. Riddle & Fisher (1925) studerade istället hur årstid kunde relateras till thyroideavikten hos duvor och fann en liknande koppling. Thyroideavikten hos duvorna ökade under hösten och vintern, men började successivt minska i vikt framåt våren och vägde som minst under sommaren. Cowan & Tajima (2006) kunde dock inte påvisa en säsongsvariation i thyroideavikt vid undersökningar av sköldkörteln hos flasknosdelfin.

Kön

Ett antal studier har undersökt om könsdimorfism existerar när det kommer till thyroideastorlek, med varierande resultat. Harrison *et al.* (1962) kunde inte påvisa en skillnad mellan honliga och hanliga knobbsälars thyroideavikter, Turner *et al.* (2006) fick liknande resultat hos flasknosdelfin, Höhn & Braun (1977) bedömde skillnaden som icke-signifikant hos ripor och Hegedüs *et al.* (1983) menar att skillnaden i thyroideavolym mellan män och kvinnor kan förklaras genom en skillnad i kroppsvikt. I kontrast till detta fann Aberle & Landauer (1935) en relativt högre thyroideavikt hos honkycklingar än hos hanar.

MATERIAL OCH METOD

Naturhistoriska riksmuseets övervakning av gråsäl

Detta examensarbete är ett samarbete med Naturhistoriska riksmuseet (NRM) och deras nationella miljöövervakningsprogram som bland annat omfattar datainsamling och obduktion av gråsäl från Östersjön på uppdrag av Naturvårdsverket. Den här studien har använt data i form av thyroideavikt, kroppsvikt, kroppslängd, späcktjocklek, kön, ålder, dödsorsak och eventuella patologiska avvikelser från gråsäl som funnits döda, skjutits eller drunknat till följd av att de fastnat i fiskeredskap. Insamlingen av döda sälar för obduktion gjordes genom upphittare som själva kontakter NRM och jägare som skickar in organprover från säljakten.

Obduktionerna utfördes av patologer vid NRM, där organ vägs och organprover tas – inklusive respektive thyroidea (höger och vänster). Sälarna mättes och vägdes, späcktjockleken bedömdes och makroskopiskt synliga patologiska förändringar noterades. Åldersbestämningen av sälarna baserades på tandsnitt från underkäkstander. Fynden från sälarna överfördes sedan från pappersjournaler till en elektronisk databas. Thyroidea från vissa djur fixerades i formalin och bäddades in i paraffin.

Statistisk undersökning

Thyroideavikt relativt kroppsstorlek

Totalt bestod data av 716 gråsäl som inkommit till NRM, vilket innebär att urvalet ej kan betraktas vara helt slumpmässigt. Individer som saknade uppmätta värden på någon av variablerna ThyrWm (thyroideavikt, medelvärde av två), BL (kroppslängd), BW (kroppsvikt), Age (ålder) och HeartW (hjärtvikt) togs därefter bort. Då återstod 654 individer, varav 198 klassades som kutar (Age=0) och analyserades separat.

För att identifiera individer med avvikande thyroideavikt undersöktes vilken av följande storleksvariabler som kunde förklara thyroideavikten bäst; BL, BW eller HeartW. Analysen utfördes med mjukvaran R (version 3.6.1) genom att förhållandet jämfördes mellan logaritmerade storleksvariabler och logaritmerad thyroideavikt. Logaritmeringen utfördes så att sambandet mellan variablerna kunde undersökas med linjär regression. Linjära regressionsmodeller användes för varje storleksvariabel, vilket bestämde storleksvariablernas förklaringsgrad. Därefter användes den storleksvariabel som bäst förklarade thyroideavikten i en modell för hur thyroideavikten beror på kroppsstorlek, vilket ges av $\log(y) = \alpha + \beta \log(x) + \epsilon$, där y betecknar thyroideavikt, x kroppslängd och ϵ är normalfördelad individuell variation. Modellen anpassades sedan för de två grupperna ”Individer 1 år och äldre” och ”Kutar”.

Utöver storleksvariabler undersöktes även effekten av Month (månad som faktorvariabel), Blubber (späcktjocklek), Sex (kön) och SeaArea (havsbasäng som faktorvariabel) genom att anpassa multipla linjära regressionsmodeller av formen $\log(\text{ThyrWm}) = \alpha + \beta_1 \log(\text{BL}) + \beta_2 \text{variabel} + \epsilon$ för individer 1 år eller äldre.

Thyroideavikt under 1980-talet

Totalt bestod data av 118 gråsäl, där 58 tillhörde sälar som obducerats mellan 1981-1989 (grupp A). Resterande 60 sälar obducerades mellan 2014-2019 (grupp B). Sälar från 1 år och

äldre inkluderades. För att göra grupperna så likvärdiga som möjligt, inkluderades endast sälar som strandats eller fångats som bifångst. Sälar som skjutits uteslöts. Medelvärdet för thyroideavikten delades med sälens kroppslängd, varpå kvoten mellan dessa användes som jämförande värde. För att undersöka detta värde skiljde sig mellan de två grupperna användes ett tvåsidigt t-test i programmet Minitab 19 (version 19.2.0.0). P-värden <0,05 ansågs vara signifikant.

Histologisk undersökning

Urvalet av gråsälar för histologisk undersökning gjordes genom att först identifiera de sälar där det fanns paraffinbäddade thyroideaprover (klossar) tillgängliga. Utifrån dessa valdes därefter totalt 25 stycken specifika individer ut för att passa in i en av följande 6 grupper; sälar med hög thyroideavikt relativt kroppslängd, sälar med låg thyroideavikt relativt kroppslängd, sälar med medelhög thyroideavikt relativt kroppslängd, prover som varit frusna innan, sälar där makroskopisk thyroideapatologi noterats samt sälar som obducerats under 1980-talet då det var höga halter av miljögifterna DDT och PCB i Östersjön (se tabell 1).

Tabell 1. Sammanställning av utvalda sälar för histologisk undersökning

Grupp	Antal sälar	Thyroideapatologi noterat i journal
Låg thyroideavikt	5	Nej
Hög thyroideavikt	5	Nej
Medelhög thyroideavikt	5	Nej
Frost innan	2	Nej
Thyroideapatologi	3	Ja ¹
Från 1980-talet	5	Ej angett
Totalt:	25	

¹ a: cysta, b: thyroideaförändringar, c: ökad konsistens ena thyroidealoben



Figur 1. Paraffinbäddad thyroideavävnad från gråsäl.

Klossarna trimmades först för att sedan snittas med en manuell mikrotom till en tjocklek på 8 µm. Vid behov fuktades även preparaten med sterilt vatten innan snittningen påbörjades. Innan snitten fixerades på objektsglas lades de i ett vattenbad för att släta ut eventuella veck i preparatet, därefter placerades de på objektsglas och fick torka på en värme-



Figur 2. Till vänster: vattenbad för att släta ut veck i preparaten. Till höger: mikrotom.

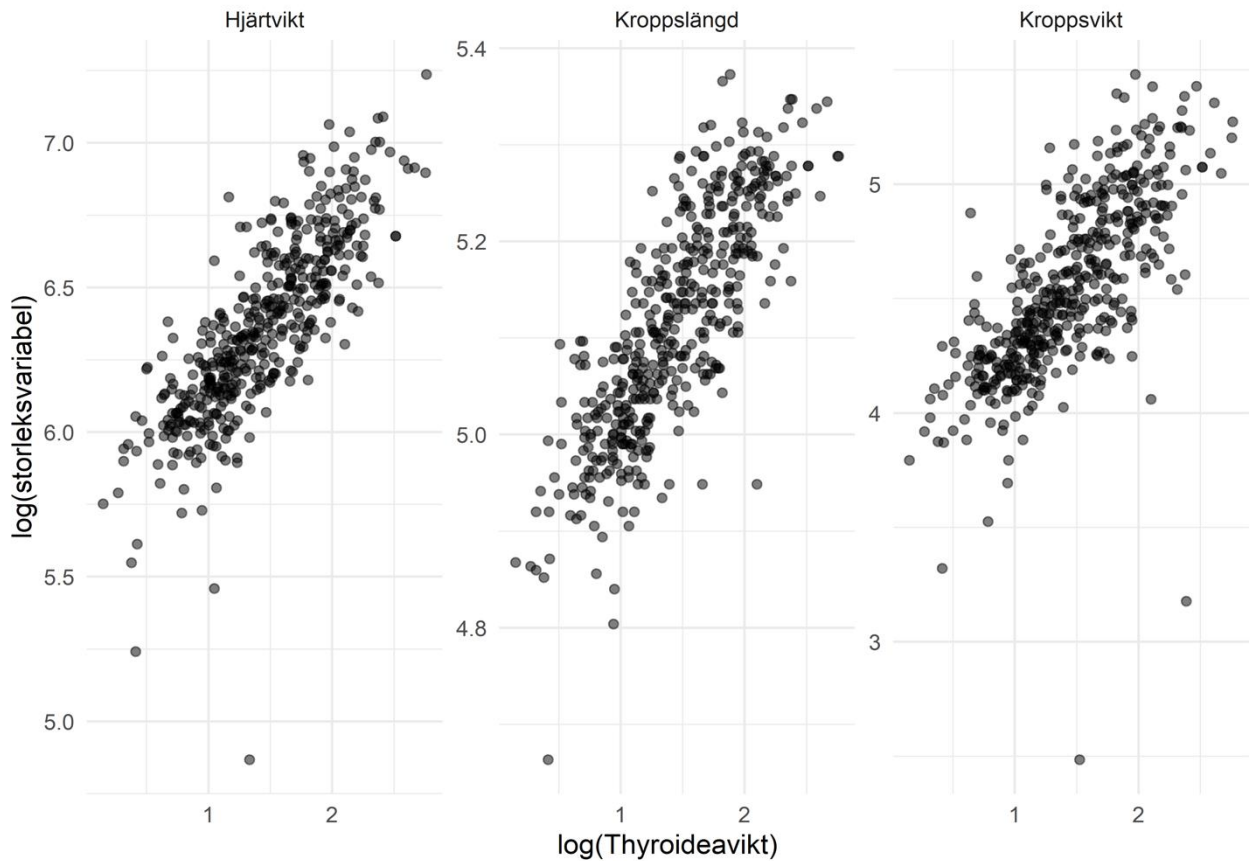
platta innan de förvarades i en låda avsedd för histologiska preparat. Totalt gjordes 5-6 objekts-
glas per kloss, varav varje objektsglas innefattar ett eller flera vävnadsnitt. Därefter fixerades
och färgades ett urval av vävnadsproverna (1-3 per säl) med H&E (Hemaotoxylin och Eosin)
och monterades med täckglas med hjälp av Pertex.

Vävnadsproverna undersöktes sedan i ett mikroskop (Nikon Eclipse 80i) med avseende på
eventuell förekomst av patologiska förändringar. 6 bilder togs slumpmässigt per thyroidea i
100x förstoring, en yta som motsvarar ca $1255 \times 941 \mu\text{m}^2$. Antalet folliklar och follikelarean
uppmättes med hjälp av programmet ImageJ för varje bild, vilket sedan användes för att ge ett
medelvärde för follikeltäthet och follikelstorlek för varje thyroidea. Inkluderingskriterier för att
räknas som en follikel i undersökningen var att follikeln skulle vara intakt och innehålla ett
lumen. Ytterligare bilder togs även på de vävnadsförändringar som förekom i vissa av prepara-
ten. I de prover som tidigare varit frysta undersöktes också specifikt eventuell förekomst av
artefakter och kvaliteten på vävnaden.

RESULTAT

Förhållande mellan thyroideavikt och kroppsstorlek

Efter logaritmering kunde förhållandet mellan thyroideavikt och storleksvariablerna kroppslängd, kroppsvikt och hjärtvikt beskrivas med linjär regression, se figur 3.



Figur 3. Logaritmerade storleksvariabler mot logaritmerad thyroideavikt. Punkterna representerar individer.

Statistisk förklaringsgrad (R^2) för logaritmerad thyroideavikt mot övriga storleksvariabler redovisas för individer 1 år eller äldre respektive kutar i tabell 2 och 3.

Tabell 2. Förklaringsgrad för individer 1 år eller äldre

Variabel	R^2
Kroppslängd	0,659
Kroppsvikt	0,527
Hjärtvikt	0,654

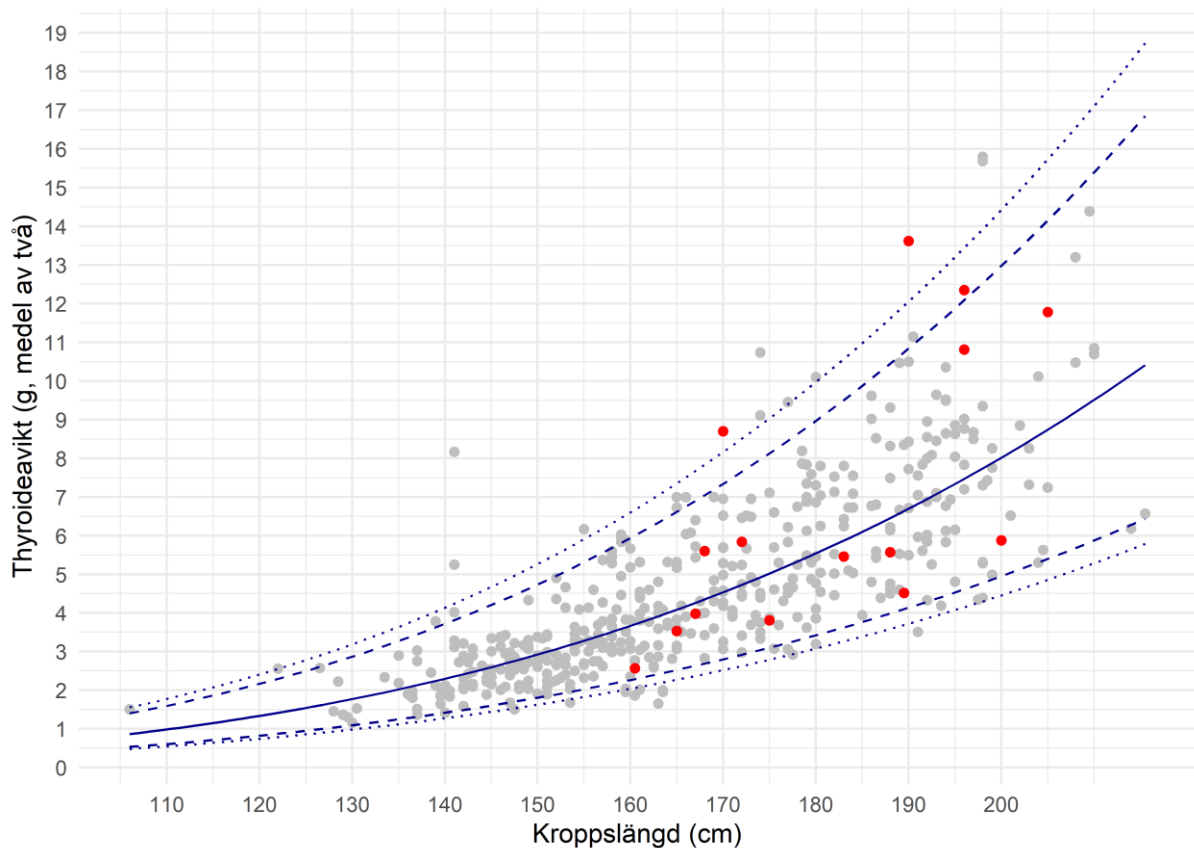
Tabell 3. Förklaringsgrad för kutar

Variabel	R^2
Kroppslängd	0,286
Kroppsvikt	0,356
Hjärtvikt	0,323

Thyroideavikten är starkare kopplad till kroppslängd eller hjärtvikt jämfört med kroppsvikt för individer 1 år eller äldre. Hos kutar var variablerna snarlika. För att förenkla jämförelsen, användes kroppslängd som storleksvariabel i den slutliga modellen för thyroideavikt för båda grupper då förklaringsgraden var likvärdig hjärtvikt.

Individer 1 år och äldre

Efter modellanpassning för gruppen fås den slutliga modellen för hur thyroideavikten beror på kroppsstorleken enligt $\log(y)=\alpha+\beta\log(x)+\epsilon$, där y betecknar thyroideavikt, x kroppslängd och ϵ är normalfördelad individuell variation, vilket redovisas i figur 4.



Figur 3. Thyroideavikt mot kroppslängd för individer 1 år eller äldre. Punkter motsvarar individer, heldragen linje den anpassade funktionen, streckad och prickad linje 90 % respektive 95 % prediktionsintervall. Röda punkter representerar de utvalda gråsälarna för histologisk undersökning tillhörande någon av de tre storlekskategorierna. De övriga kategorierna är inte utmärkta i figuren.

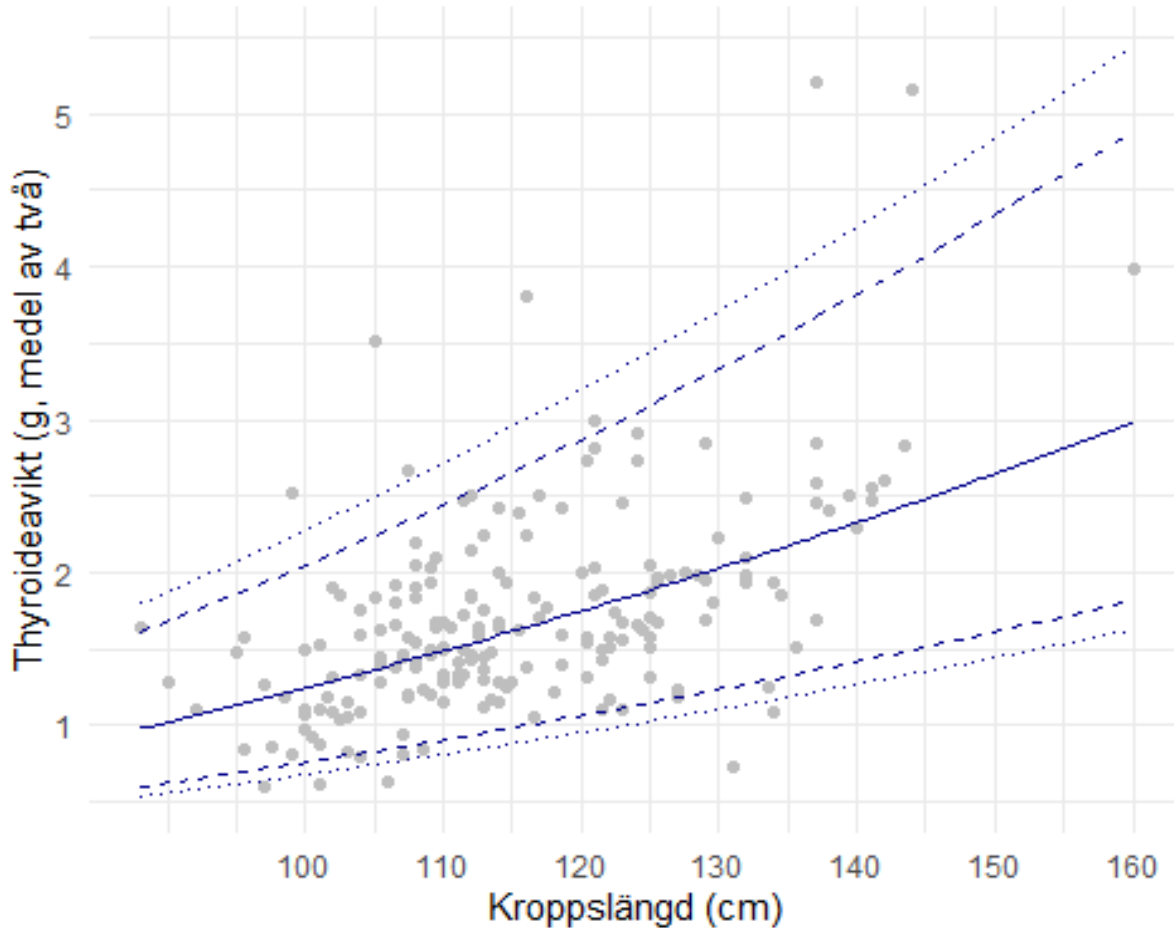
I tabell 4 sammanfattas modellanpassningen för individer 1 år eller äldre.

Tabell 4. Sammanfattning av modellanpassning för thyroideavikt, individer 1 år eller äldre

	Estimat	Standardfel	T-värde	Pr(> t)
Intercept	-16.480	0.605	-27.260	0
Kroppslängd	3.503	0.118	29.641	0

Kutar

Hur thyroideavikten beror på kroppslängden hos kutar redovisas i figur 5, enligt formeln $\log(y)=\alpha+\beta\log(x)+\epsilon$, där y betecknar thyroideavikt, x kroppslängd och ϵ är normalfördelad individuell variation.



Figur 4. Thyroideavikt mot kroppslängd för kutar. Punkter motsvarar individer, heldragen linje den anpassade funktionen, streckad och prickad linje 90 % respektive 95 % prediktionsintervall.

Inga kutar valdes ut för histologisk undersökning. I tabell 5 nedan sammanfattas modellenanpassningen för kutar.

Tabell 5. Sammanfattning av modellenanpassning för thyroideavikt, kutar

	Estimat	Standardfel	T-värde	Pr(> t)
Intercept	-8.318	0.992	-8.379	0
Kroppslängd	1.854	0.209	8.857	0

Övriga faktorer

Av de övriga faktorerna som undersöktes (månad, späcktjocklek, kön och havsbassäng) visade endast kön en signifikant effekt tillsammans med kroppslängd, vilket motsvarade en uppskattad 7 % högre thyroideavikt hos honor relativt hanar (p-värde 0,022, se tabell 6 nedan).

Tabell 6. Effekten av kön tillsammans med kroppslängd på thyroideavikt, individer 1 år eller äldre

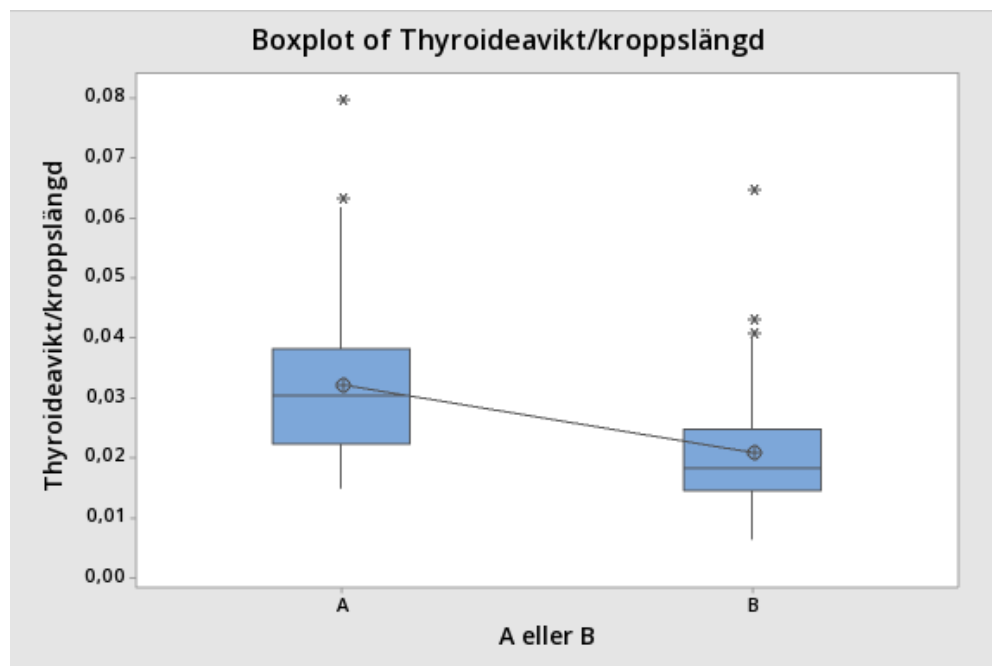
	Estimat	Standardfel	T-värde	Pr(> t)
Intercept	-16.777	0.630	-26.622	0.000
Kroppslängd	3.557	0.122	29.048	0.000
Kön	0.071	0.031	2.291	0.0224

Thyroideavikt under 1980-talet

I tabell 7 och figur 6 redovisas resultat från ett tvåsidigt t-test mellan sälar som obducerats mellan 1981-1989 (grupp A) och sälar som obducerats mellan 2014-2019 (grupp B).

Tabell 7. Jämförelse av medelvärdet för thyroideavikt mellan sälar som obducerats mellan 1981-1989 (grupp A) och sälar som obducerats mellan 2014-2019 (grupp B)

Grupp	N	Medelvärde	Standardavvikelse
A	58	0,032	0,013
B	60	0,021	0,010

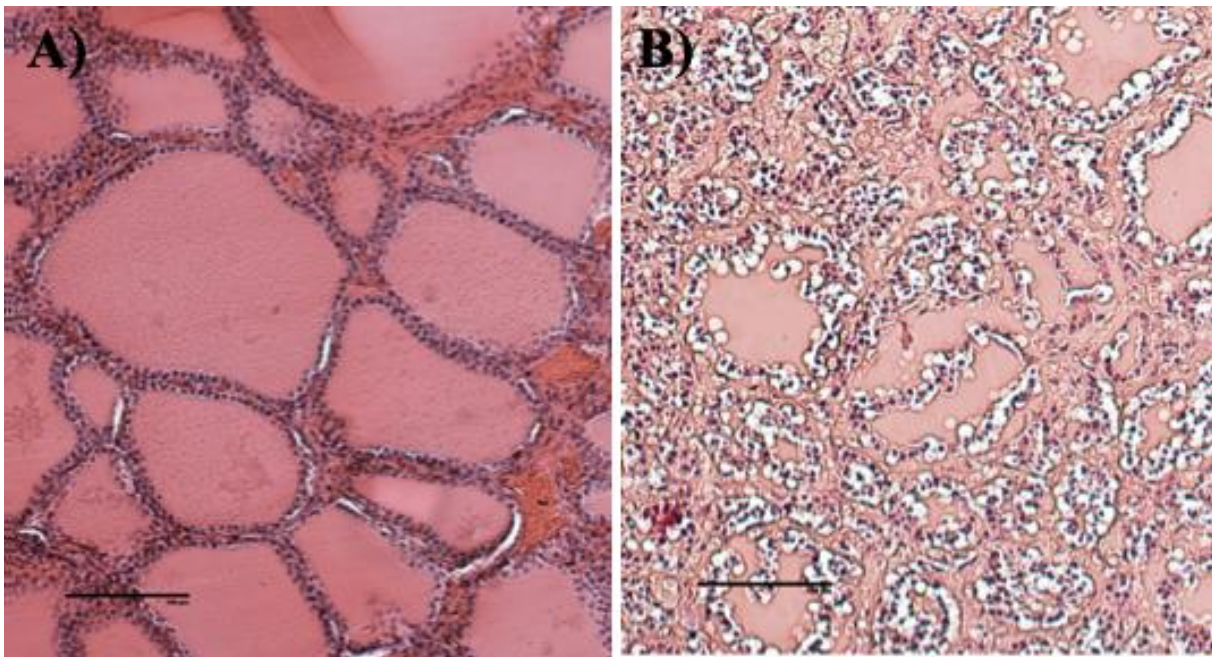


Figur 5. Lådagram över kvoten mellan thyroideavikt/kroppslängd för sälar som obducerats mellan 1981-1989 (grupp A) och sälar som obducerats mellan 2014-2019 (grupp B). Skillnad mellan grupperna var 0,01, p-värde: <0,001.

Medelvärdet för thyroideavikten var i grupp A 5,56 g och 3,42 g i grupp B.

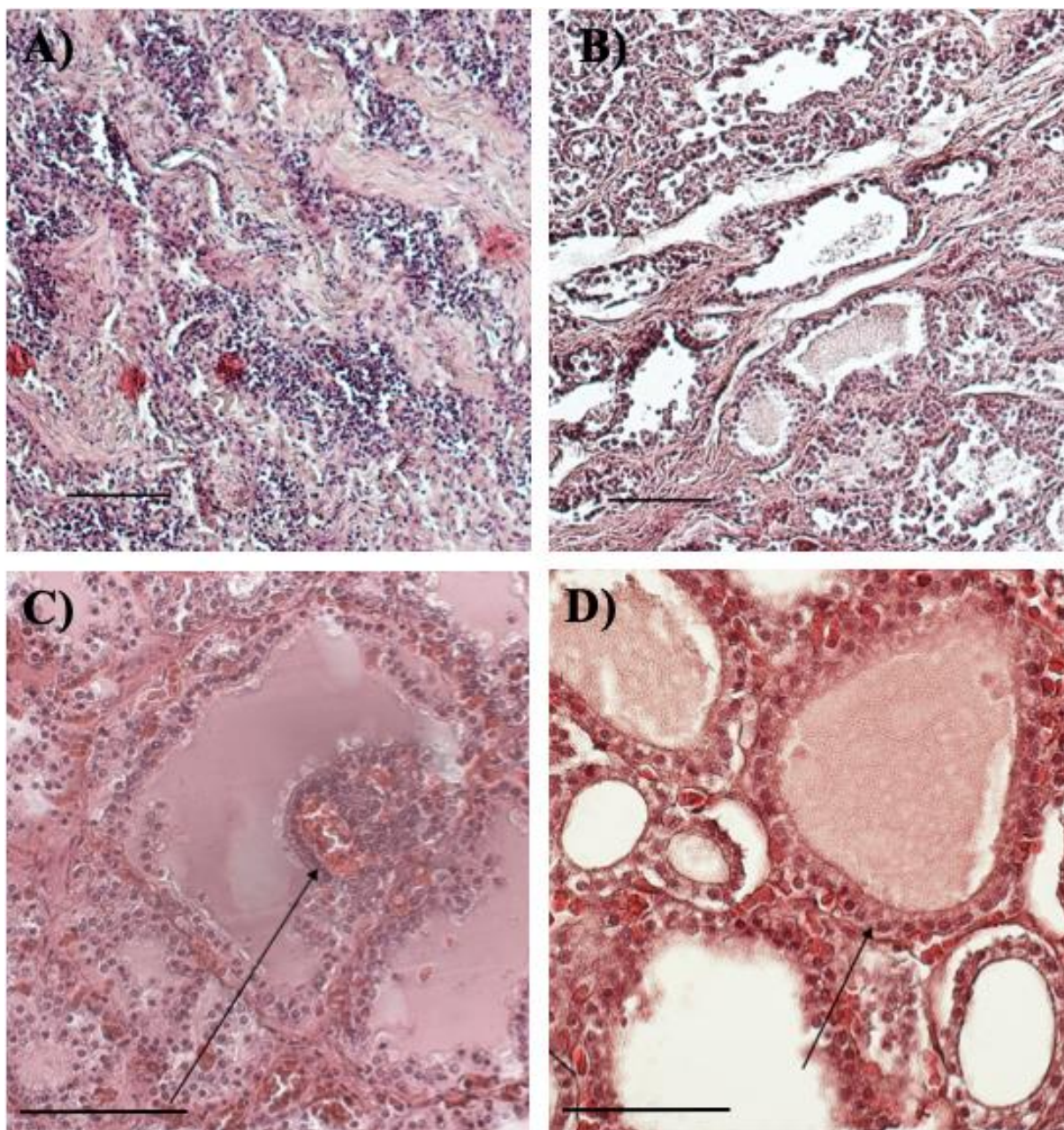
Histologiska fynd

Av totalt 25 histologiskt undersökta thyroideor hade 11 av preparaten så kraftiga kadaverösa förändringar att vävnaden inte gick att bedöma, varför de uteslöts från att undersökas avseende follikel-täthet och follikelstorlek i nästa avsnitt (se jämförelse i figur 7). Av de 14 återstående preparaten, som var av bättre kvalitet, uppvisade 7 vävnadsprover lindriga kadaverösa förändringar med fokal utbredning, vilket gjorde att bedömning endast var möjlig för de områden som ej drabbats av förruttelse.



Figur 7. H&E-färgade thyroideasnitt från gråsäl, 100x förstoring. Till vänster ses exempel på individ med normal thyroideavävnad (A). Till höger ses exempel på ett preparat med kraftiga kadaverösa förändringar – gasbildning, degenererade folliklar och förlorad vävnadsstruktur (B). Skalfält 100 μ m.

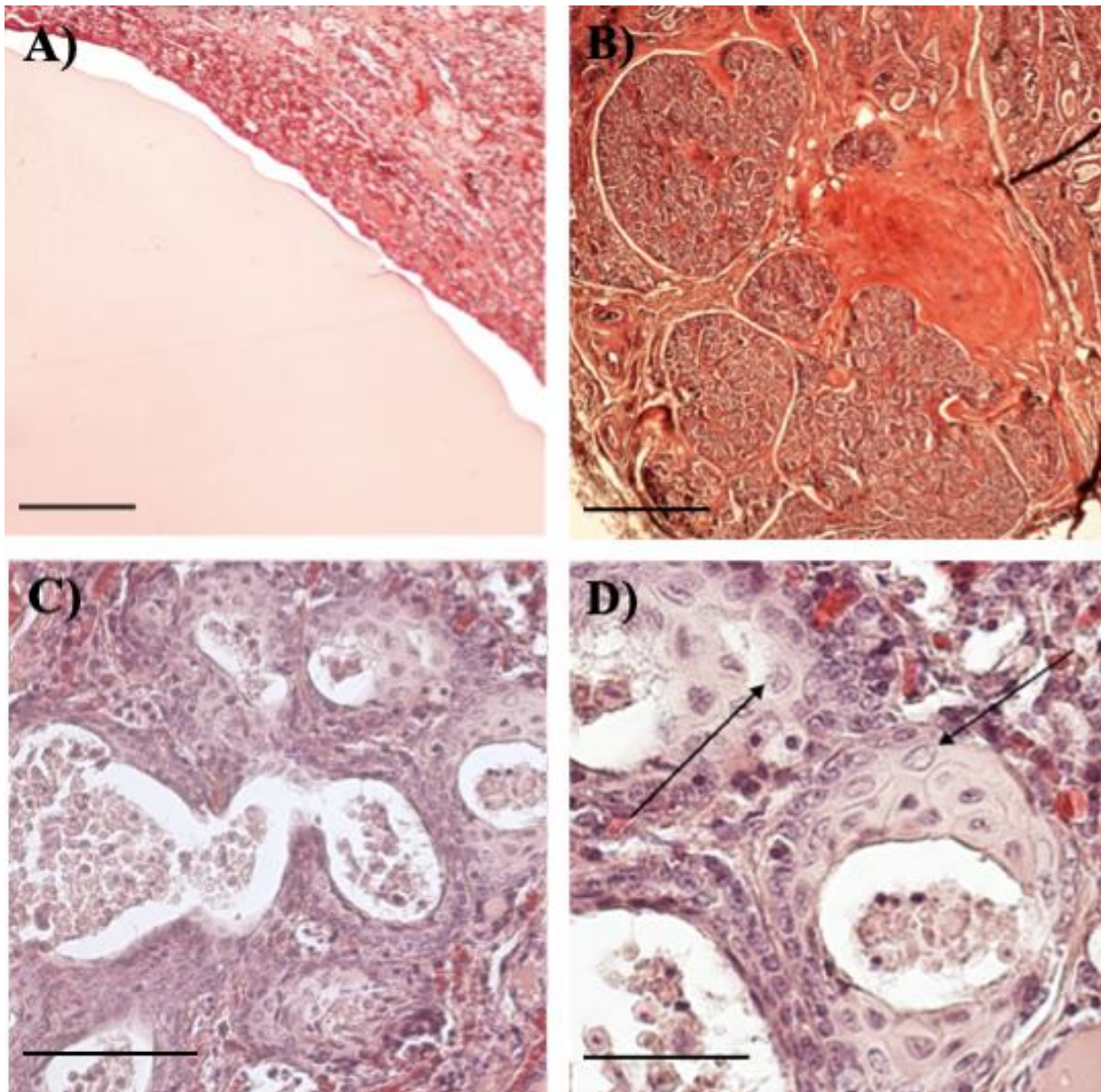
Fem thyroideor (av de godtagbara 14) bedömdes ha normal morfologi helt utan patologiska förändringar, där en tillhörde gruppen ”Medelhög thyroideavikt”, två tillhörde gruppen ”Från 1980-talet”, en tillhörde gruppen ”Hög thyroideavikt” och en tillhörde gruppen ”Låg thyroideavikt”. Ett preparat tillhörande gruppen ”Thyroideapatologi” visade inga tecken på kadaverösa förändringar, men hade kraftiga kroniska förändringar i form av infiltration av inflammatoriska celler och massiv bindvävstillväxt till den grad att normalt thyroideaparenkym saknades helt, vilket gjorde att det inte till fullo gick att säkerställa om det faktiskt var ett vävnadsprov från thyroidea eller något annat organ (figur 8A). Därför har även denna säl uteslutits ur follikeljämförelsen. I obduktionsjournalen tillhörande denna individ beskrevs att sälen upphittades död på isen i magert tillstånd med en rad grava patologiska förändringar, inklusive en 5 mm stor cysta i thyroidea. Någon cysta i den storleken kunde ej påvisas i de histologiska vävnadssnitten.



Figur 8. H&E-färgade thyroideasnitt från gråsäl. Kroniskt förändrad thyroidea med kraftiga bindvävsstråk och infiltration av inflammatoriska celler, 100x förstoring (A), ökad interfollikulär fibros, 100x förstoring (B), papillär follikelcellshyperplasi, 200x förstoring (C) och follikelcellshypertrofi, 400x förstoring (D). Skalfält 500 μm i bild A, B och C. Skalfält 50 μm i bild D.

Det vanligaste fyndet hos de preparat som gick att bedöma (n=14) var varierande grad av interfollikulär fibros (n=8), vilket förekom inom alla grupper. Därefter var follikelcellshyperplasi och/eller -hypertrofi näst vanligast (n=4) tillsammans med förekomst av mikrofolliklar (folliklar innehållandes liten mängd kolloid, bestående av <15 follikelceller) i preparatet (n=4), följt av infiltration av inflammatoriska celler (n=2) och förekomst av makrofolliklar (folliklar innehållandes stor mängd kolloid med platt follikelceller) i preparatet (n=1). Av de 3 sälar som tillhörde gruppen ”Thyroideapatologi”, återfanns en mindre cysta hos en – dock av betydligt mindre storlek än de 5 mm som angavs i obduktionsjournalen (benämnd med ”cysta”), en gick inte att bedöma på grund av kraftiga kadaverösa förändringar (benämnd med ”thyroideaförändringar”) och den sista hade en välavgränsad förändring i ena thyroideapolen (benämnd med

”ökad konsistens ena thyroidealoben”), se figur 9. Troligtvis representerar förändringen i denna thyroidea parathyroidea, men den ökade konsistensen kan förklaras av bindvävsstråk i anslutning till parathyroidea. Resterande delar av det preparatet bedömdes normala, trots att en del kadaverösa förändringar förekom. Utöver dessa återfanns cystiska förändringar hos ytterligare 2 individer och en hade en nybildning.



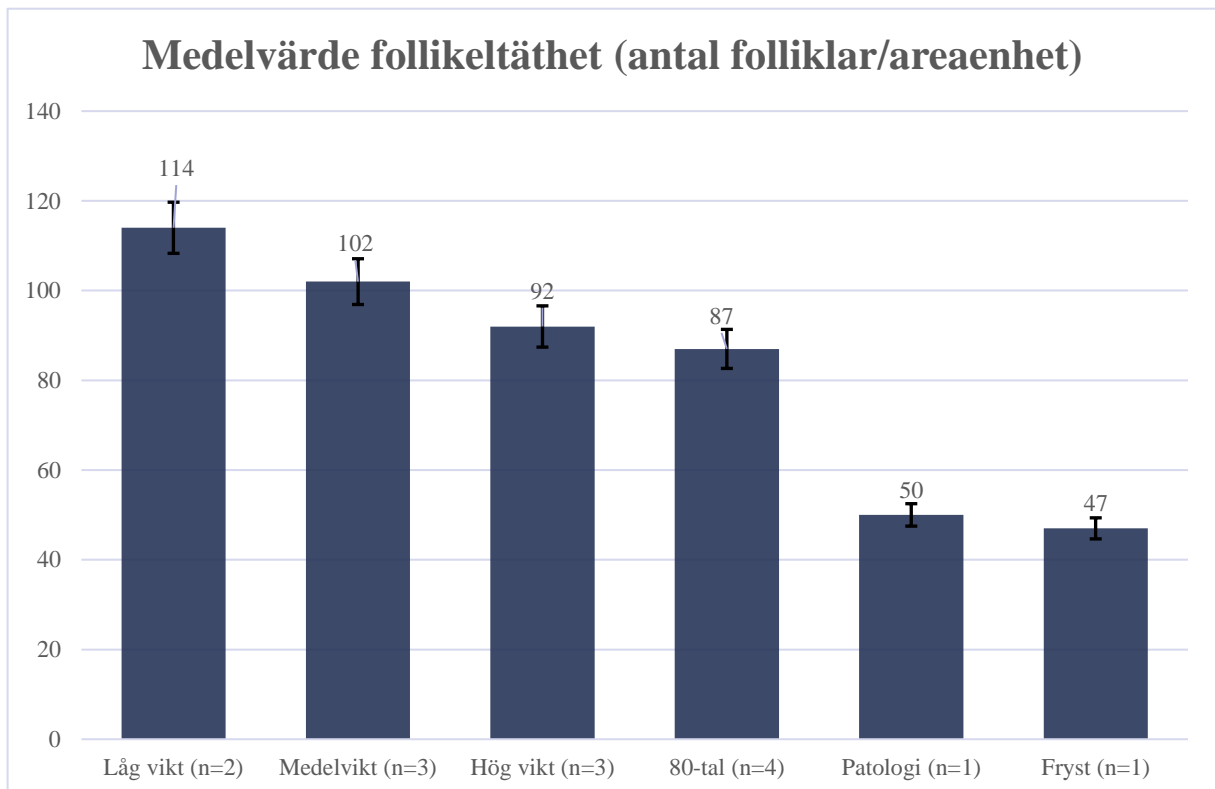
Figur 9. H&E-färgade thyroideasnitt från gråsäl. Del av cysta, 40x förstoring (A), förändring, troligen parathyroidea, från säl med ”ökad konsistens ena thyroidealoben”, 40x förstoring (B), nybildning från säl utan makroskopiska fynd, 200x förstoring (C), pleomorfa celler från samma nybildning som C, 400x förstoring (D). Skalfält 500 μm i bild A och B, 100 μm i bild C och 50 μm i bild D.

Ingen markant skillnad i förekomst av patologiska fynd kunde påvisas mellan de olika storleksgrupperna eller sälarna från 1980-talet, då samtliga grupper både hade thyroideor som bedömdes normala och thyroideor med varierande grad av patologiska förändringar. Av de 2 preparat som varit frysta innan hade en kraftiga kadaverösa förändringar och gick således ej att bedöma. Det andra frysta preparatet uppvisade måttliga kadaverösa förändringar och en del artefakter,

främst i form av sprickor, men var trots detta vara i godtagbart skick för histologisk bedömning vissa delar av snittet.

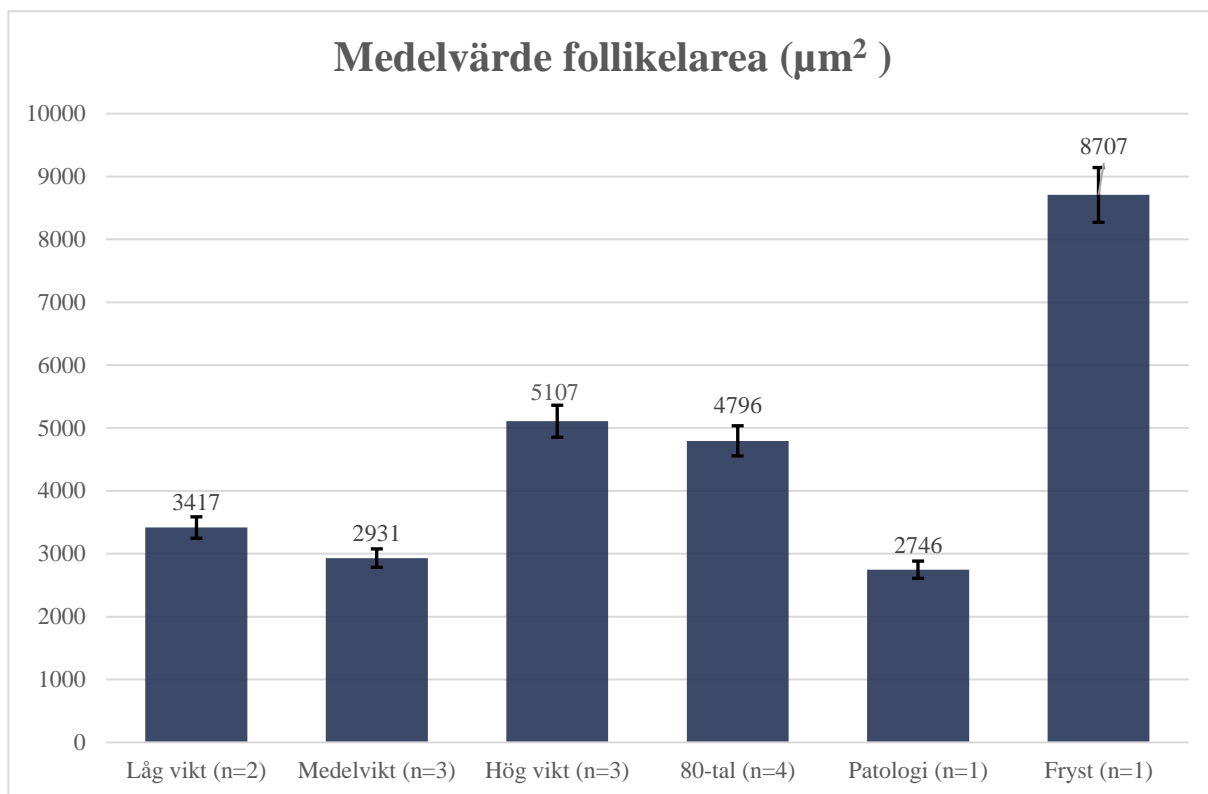
Follikeltäthet och follikelstorlek

Medelvärdet för hur många folliklar som fanns per bild var snarlikt mellan viktgrupperna och sälarna från 1980-talet (figur 10). Antalet individer var för få för att kunna jämföras statistiskt, men ur figur 10 kan det möjligtvis utläsas att ju lägre thyroideavikt desto fler folliklar fanns det. Sälarna från 1980-talet hade liknande follikelantal som gruppen ”Hög thyroideavikt”. Grupperna ”Thyroideapatologi” och ”Fryst innan” innehöll endast 1 individ per grupp.



Figur 10. Medelvärdet för follikeltätheten mätt i antal folliklar per areaenhet (ca $1255 \times 941 \mu\text{m}^2$) för de olika grupperna. Felstaplarna motsvarar 95 % konfidensintervall.

Variationen mellan individer var i vissa fall stor. Individen med flest antal folliklar hade ett medelvärde på 170 folliklar/bild, vilken tillhörde gruppen ”Låg thyroideavikt”. Individen med lägst antal folliklar hade i snitt 47 folliklar per bild, vilken tillhörde gruppen ”Fryst innan”.



Figur 11. Medelvärde för follikelarean (mätt i μm^2) som uppmättes för varje grupp. Felstaplarna representerar 95 % konfidensintervall.

Vid jämförelse gällande medelvärdet för follikelarean (figur 11) som uppmättes för varje bild är det en kategori som utmärker sig: "Fryst innan". Denna kategori innehöll dock, som tidigare nämnts, endast en individ – den enda gråsäl som hade förekomst av makrofolliklar vid den histologiska undersökningen. De olika viktkategorierna skiljer sig något mellan varandra, där "Hög thyroideavikt" hade störst folliklar, "Medelhög thyroideavikt" hade minst folliklar och "Låg thyroideavikt" låg däremellan. Även här är sälarna från 1980-talet mest lika gruppen "Hög thyroideavikt".

DISKUSSION

Thyroideavikt – samband och betydelse

Resultaten från regressionsanalysen visade på ett tydligt linjärt samband mellan thyroideavikten hos sälarna och de olika storleksvariablerna kroppslängd, kroppsvikt och hjärtvikt. Resultatet är i linje med resultaten från studien av Harrison *et al.* (1962), där ett linjärt samband mellan thyroideavikt och kroppsvikt konstaterades hos knubbsäl. Den statistiska förklaringsgraden för thyroideavikten varierade dock något mellan variablerna, där kroppslängd och hjärtvikt hade större samband med thyroideavikten jämfört med kroppsvikten i gruppen ”Individer 1 år eller äldre”. Detta innebär att thyroideavikten, enligt denna statistiska modell, till 66 % kan relateras till sälens kroppslängd hos säl 1 år eller äldre. Resterande 34 % beror på andra, okända faktorer. Thyroideavikten hos gråsäl är med andra ord till stor del sammankopplad med sälens kroppsstorlek, men den exakta naturen av detta förhållande, hur de samverkar och påverkas av varandra fysiologiskt, är svårt att utröna. Troligtvis beror thyroideavikten på sälens storlek, samtidigt som vikten på thyroidea skulle kunna ha en påverkan på hur stor sälen är.

För kutarna var den statistiska förklaringsgraden för thyroideavikten lägre, knappt 30 %, vilket indikerar att större delen av thyroideavikten hos kutarna är relaterad till andra faktorer än kroppslängden. Detta illustreras i figur 5, där spridningen av kutarnas thyroideavikt ger ett spretigare intryck än hos de äldre sälarna i figur 4. Enligt Cowan & Tajima (2006) är kroppslängd ett bättre mått att använda än kroppsvikt för vuxna flasknosdelfiner, tack vare dess konsekvens under djurets vuxna liv. För kutar förändras dock kroppslängden konstant, vilket gör att den faktorn blir ett mer osäkert mått hos kutar än hos vuxna individer. I en studie gjord på människa undersöktes normal thyroideastorlek hos nyfödda barn (1 vecka eller yngre), i vilken inget samband mellan thyroideastorlek och kroppsvikt kunde fastställas (Perry *et al.*, 2002). Det är därför möjligt att andra faktorer, som till exempel ålder, spelar större roll hos yngre individer för thyroideavikten jämfört med äldre.

Trots att någon signifikant könsdimorfism inte kunnat konstateras gällande thyroideastorlek i flertalet tidigare studier för andra djurslag, såsom knubbsäl (Harrison *et al.*, 1962) eller ripor (Höhn & Braun, 1977), visade resultaten från denna studie på en något högre thyroideavikt hos gråsälshonor jämfört med hanar. Orsakerna till detta är troligen flera och komplexa. I en studie med flasknosdelfin av St. Aubin *et al.* (1996) hade honor en signifikant högre serumkoncentration thyroideahormon jämfört med hanar. Författarna spekulerar i att skillnaden mellan könen kan vara relaterad till en högre aktivitet hos honor i samband med till exempel dräktighet och laktation som påverkar energibehovet, vilket ger högre TH-halter. En relativt högre thyroideaaktivitet hos honor skulle också kunna resultera i en något högre thyroideavikt än hos hanar.

De andra övriga faktorer som undersöktes: späcktjocklek, vilken havsbassäng där sälen hittats eller vilken månad sälen dog visade sig inte ha någon effekt på thyroideavikten. Att årstid inte verkade ha något samband med thyroideavikten är något förvånande, eftersom det visats tidigare för andra, dock landlevande, djurslag (Riddle & Fisher, 1925; Hoffmann & Shaffner, 1950). Samma säsongsvariation kunde dock inte påvisas hos flasknosdelfin (Cowan & Tajima, 2006) – ett annat marint däggdjur, likt gråsäl. Det ska dock nämnas att delfinerna som ingick i studien härstammade från Mexikanska golfen, alltså har de levt i ett betydligt varmare klimat

än vad gråsälarna i denna studie har. Delfiner lever dessutom helt och hållet i vattnet, till skillnad från gråsälarna som spenderar en del av sin tid på land. Således medför det många svårigheter i att jämföra dessa arter med varandra. En möjlig förklaring till varför ingen effekt av årstid på thyroideavikten kunde uppmätas hos gråsäl, trots att det uppmärksammats hos andra djurslag, skulle kunna finnas i att kustlevande arter inte blir utsatta för lika stora temperaturskillnader jämfört med inlandslevande däggdjur, då närheten till havet ger en jämnare temperatur över året. Hade effekten av årstid delats upp i årskvartal likt studien av Riddle & Fisher (1925), istället för enskilda månader, är det möjligt att effekten av årstid på thyroideavikten hade blivit större.

Enligt resultatet från t-testet hade sälarna som levde under 1980-talet en signifikant högre thyroideavikt jämfört med sälarna som levde under 2010-talet efter att organvikten justerats med kroppslängden. Medelvärdet för sälarna från 1980-talet var 5,56 g, vilket är samma medelvärde på 5,56 g som Harrison *et al.* (1962) fick för vuxna knubbsälarna under 1960-talet. Kroppsstorleken skiljer sig dock markant mellan grå- och knubbsäl, varför det inte går att helt jämföra resultaten mellan studierna. Medelthyroideavikten för sälarna som dött under 2010-talet var 3,42 g. Det är svårt att avgöra huruvida denna storleksskillnad är relaterad till de höga miljögiftshalterna i Östersjön under 1980-talet. Ökad thyroideavikt till följd av exponering för miljögifter har experimentellt kunnat påvisas för råttor och duvor (Jefferies & French, 1969; Sonstegard & Leatherland, 1979), så potentiellt skulle den miljögiftsexponering gråsälarna utsatts för under 80-talet kunnat bidra till en ökad thyroideavikt, även om ett sådant samband är problematiskt att bevisa. Att analysera vilka miljögiftshalter sälarna i de olika grupperna faktiskt hade, till exempel i späcket eller levern, hade kunnat fungera som ett verktyg i att tydligare kunna påvisa ett samband mellan miljögiftshalter och thyroideapåverkan.

Skillnaden i medelvikt skulle också delvis kunna vara klimatrelaterad. Hoffmann & Shaffner (1950) visade i sin studie med kycklingar att yttertemperaturen kan ha ett samband med thyroideavikten, där vikten är som högst under kalla förhållanden och vice versa. Enligt SMHI (Sveriges meteorologiska och hydrologiska institut, 2019) har alla år sedan 1988, utom 1996 och 2010, varit varmare eller mycket varmare än genomsnittet för åren 1961-1990 i Sverige. Uppvärmningen som uppmätts i Sverige under denna tid är i linje med den globala uppvärmningen som sker till följd av den tilltagande växthuseffekten. Medeltemperaturen i Östersjön verkar följa samma mönster, då djupvattentemperaturen ökat från 4°C till ungefär 6°C under 1990-talet och framåt (Humborg *et al.*, 2019). Alltså har sälarna från 2010-talet och framåt levt i ett varmare klimat än sina äldre släktingar. Som tidigare nämnts beror thyroideastorleken på en rad komplexa faktorer, vilket gör att det är nästintill omöjligt att härleda specifika mekanismer såsom miljögifter eller temperatur, att ligga bakom viktskillnaden. Antalet okända element är dessutom särskilt många i denna studie och med att den är utförd på vilda djur som levt under icke-kontrollerade förhållanden.

Ytterligare en aspekt att ta i beaktande är att det är medelvikten av sälens två thyroideor som använts i denna studie, något som kan maskera till exempel en atrofisk höger thyroidea och en kompensatoriskt stor vänster thyroidea. Metoden att använda medelvikten valdes eftersom att alla sälarna inte hade inmatade värden för båda thyroideorna i databasen. Under den histologiska

undersökningen uppmärksammades också det faktum att flertalet thyroideor hade kraftiga kadaverösa förändringar, något som inte tagits hänsyn till i medelviktsjämförelsen. Urvalet av sälar som ingick i denna studie bestod av de gräsälar NRM fått in via jakten, drunknat eller som hittats döda. Detta medför troligen att de sälar som är funna döda och har undersökts har en högre grad av sjuklighet, både i thyroidea och generellt, än genomsnittet i Sveriges sälpopulation, vilket kan ge en icke-representativ bild av situationen eftersom även de är inkluderade i urvalet.

Det verkar finnas ett samband mellan thyroideavikt och thyroideafunktion. I en studie av Höhn (1949) undersöktes thyroidea viktmässigt och histologiskt hos gräsänder. Thyroideor som histologiskt bedömts vara aktiva hade lägre vikt, medan vilande thyroideor var tyngre. Höhn menar dock att en komplett korrelation mellan vikt och aktivitetsnivå antagligen inte existerar, eftersom thyroidea har förmågan att lagra kolloid. Upplagringen går successivt, varför det blir en viss fördröjning innan någon skillnad ses i vikt. På samma sätt kan en aktiv thyroidea, som har mycket kolloid lagrad, väga mycket i början av utsöndringsfasen av hormoner trots att den anses vara aktiv. Med detta som grund torde endast organvikten hos thyroidea vara en dålig indikation på den cykliska aktivitet sköldkörteln genomgår under årets gång.

Hos möss har morfologiska skillnader, såsom minskat RER och mikrovilli, setts hos follikelceller tillhörande mycket stora folliklar, vilket skulle kunna tyda på en lägre thyroglobulinsyntes i dessa folliklar (Mestdagh *et al.*, 1990). På motsvarande sätt verkar mindre folliklar ha en högre jodomsättning än stora folliklar (Faggiano *et al.*, 2004). Samtidigt har thyroideaviken visat sig bli högre under perioder som sätter krav på en högre metabolism och därmed sköldkörtelsaktivitet (Riddle, 1929) – forskningen kring hur thyroideavikten är relaterad till dess aktivitet är inkonklusiv. Thyroideavikten skulle därför kunna användas som en första indikator på huruvida sköldkörteln är normal eller ej, även om det inte helt och hållet går att utesluta att en normalviktig thyroidea har patologiska förändringar och att en avvikande thyroideavikt inte automatiskt innebär sjuklighet.

Histologisk bedömning

Vid den histologiska undersökningen av preparaten blev det uppenbart att god hantering av vävnadsprover är väsentligt för att över huvud taget kunna göra en histologisk bedömning. Det flesta preparat hade någon grad av postmortem-förändringar, vilket försvårar bedömningen. Av de preparat med högst grad av kadaverösa förändringar var det bara en säl som obducerats inom 1 dag och upphittats under vintermånaderna. Resterande sälar, där det fanns uppgifter om när den hittats och obducerats, upphittades antingen under sommarmånaderna juni eller juli eller så utfördes obduktionen som tidigast 3 dagar efter upphittandet. Den säl med längst tidsintervall mellan upphittande och obduktion var 8 dagar. De sälar vars preparat bedömdes vara i gott skick obducerades som längst 2 dagar efter upphittandet.

Hantering efter obduktionen är också avgörande för hur kvaliteten blir på vävnadssnitten. Vid uppsnittning av klossarna var ett flertal av vävnadsbitarna för stora i relation till mängden paraffin. Detta gör att paraffinet har svårt att tränga in i vävnaden och resulterar i ett mycket torrt preparat i mitten, vilket försvårar snittningen. En del av klossarna innehöll också två stycken vävnadsbitar, höger och vänster thyroidea, vilket resulterar i samma problematik som

när bitarna är för stora. Två vävnadspreparat hade tidigare varit frysta, där en av dem var svårbedömd på grund av kraftiga kadaverösa förändringar och en hade måttliga kadaverösa förändringar. Att frysa vävnad kan resultera ibland annat försämrade infärgning, förändrad cellstruktur och vattenansamling i preparaten (Baraibar & Schoning, 1985). Att dra några större slutsatser endast utifrån de två preparat som inkluderades i denna studie är otillförlitligt, men frysartifakter verkar definitivt förekomma hos och ha en påverkan på thyroideapreparat (Anton & Wheeler, 2005).

Ur de preparat där vävnaden bedömdes vara av godtagbar kvalitet, och de preparat med lindriga-måttliga kadaverösa förändringar, gick det att utläsa större patologiska förändringar såsom tumörbildning, ökad fibros eller inflammation. Mer detaljerad information, som till exempel bedömning av follikelepitelhöjd – något som bland annat gjorts i studien av Harrison *et al.* (1962), gick inte att utläsa på grund av för dålig upplösning i preparaten. Möjliga orsaker till detta skulle kunna vara för tjocka snitt, tekniska brister under snittningen, felinställt mikroskop eller otillräcklig formalinfixering och/eller paraffinbäddning.

Generellt var intrycket av thyroideavävnaden tillhörande de preparat som var i gott skick bra. Alla individer, utom 1, bedömdes ha en aktiv sköldkörtel eftersom det fanns kolloidfyllda folliklar av normalt utseende i större delen av parenkymet. Ett flertal sälar hade dock förekomst av förändringar av varierande grad, som antingen var generellt eller fokalt utbredda. Det vanligaste fyndet i vävnadspreparaten var ökad interfollikulär fibros, vilket fanns i 8 av de 14 preparat som gick att bedöma. Bindvävstillväxt kan uppkomma som en följd till inflammation eller skada och är en del av läkningsprocessen.

Experimentellt har en ökad bindvävstillväxt setts i thyroidea hos råttor som utsatts för PCB (Pereira *et al.*, 2007) och ökad fibros i thyroidea har också observerats hos sälar som levt i områden med höga PCB-halter (Schumacher *et al.*, 1993). Das *et al.* (2006) fann ett samband mellan ökad interfollikulär fibros i thyroidea och halter av miljögifterna PCB, PBDE, DDE och DDT i späcket hos tumlare från bland annat Östersjön. Vidare menar författarna att om bindväven ersätter normal follikelvävnad resulterar det sannolikt i en betydligt försämrade thyroideafunktion. I denna studie kunde dock inget samband mellan förekomst av fibros kopplas till varken thyroideavikten eller att sälen obducerats under 1980-talet, då fenomenet förekom inom alla kategorier. Därmed går det inte att avgöra varför just dessa sälar hade ökad fibrotisering, även om miljögifter verkar kunna orsaka den typen av vävnadsförändring i thyroidea.

Den näst vanligaste förändringen (n=4) som förekom hos preparaten var follikelhyperplasi och follikelhypertrofi. Detta har kopplats till klororganiska miljögifter hos duvor och råttor (Jefferies & French, 1969; Sonstegard & Leatherland, 1979). Cellhyperplasi och -hypertrofi kan vara ett svar på en ökad arbetsbelastning för det drabbade organet, men kan också uppkomma till följd av patologiska processer. Nodulär thyroideahyperplasi kan dessutom vara mycket svår att skilja från neoplastiska förändringar såsom adenom. Inte heller dessa förändringar var överrepresenterade hos någon av grupperna. De skulle kunna vara orsakade av en ökad thyroideaaktivitet som ett resultat av rent fysiologiska mekanismer, men det går inte heller att utesluta att patologiska processer ligger bakom.

Lika många sälar hade förekomst av mikrofolliklar (folliklar innehållandes en liten mängd kolloid, bestående av <15 follikelceller). Om detta är en patologisk förändring kan diskuteras, eftersom det kan vara ett tecken på hög thyroideaaktivitet. Sälarna från PCB-rika områden, som ingick i studien av Schumacher *et al.* (1993), visade dock tecken på minskad follikelstorlek. I en studie av Faggiano *et al.* (2004) hade barn en högre förekomst av små folliklar jämfört med vuxna, något som inte verkar överensstämma i detta fall då sälarna med mikrofolliklar varierade i ålder.

Övriga patologiska förändringar som påvisades hos ett antal av sälarna var nybildningar och cystor. En individ hade även förekomst av makrofolliklar (folliklar innehållandes stor mängd kolloid med platt follikelepitel). Ingen grupp utmärkte sig specifikt i detta avseende, utan förekomsten var jämnt fördelat mellan grupperna. PCB har visat sig kunna öka förekomsten av follikelcellsadenom hos hanråttor (Mayes *et al.*, 1998), men huruvida miljögifter ökar tumörrisken hos sälar är oklart. Ett samband mellan PBDE och ökad cancerrisk misstänks hos människor (Zhang *et al.*, 2008), även om en sådan koppling inte ännu kunnat påvisas. Kemiska föreningar som verkar celltoxiskt är dock en mycket vanlig anledning till varför tumörer uppkommer (Klaasen, 2007).

En säl hade en förändring i ena thyroidealoben som troligen representerar parathyroidea, men för att säkert skilja detta från en godartad nybildning (adenom) krävs specialfärgning som differentierar parathyroidea- och thyroideavävnad. Litteratur gällande utseende för parathyroidea hos säl är mycket sparsam, varför det är svårt att finna referensmaterial.

Follikeljämförelse

Vid undersökningen gällande medelantal folliklar som fanns i varje bild tagen av thyroideapreparaten, verkade thyroideorna med lägst vikt också ha flest antal folliklar. Av de olika storlekskategorierna hade de med högst thyroideavikt lägst antal folliklar. Om hypotesen att thyroideor med lägre vikt är mer aktiva och vice versa stämmer, tillsammans med att små folliklar representerar ett aktivare thyroideaparenkym, är det logiskt att de med lägre thyroideavikt också har ett större antal folliklar per bild eftersom folliklarna är mindre till storleken. På samma sätt får då thyroideorna med högre medelvikt också ett färre antal folliklar per bild. Detta överensstämmer någorlunda med resultatet från mätningen av follikelarea, där tyngre thyroideor generellt hade större folliklar jämfört med lättare. Här hade dock thyroideor med medelhög vikt lägst antal folliklar, vilket är något motsägelsefullt. Sälarna från 1980-talets follikeltäthet och follikelarea liknade gruppen med hög thyroideavikt mest, något som eventuellt skulle kunna indikera en viss thyroideainaktivitet hos de sälarna. Grupperna i denna studie innehåller dock får få individer och osäkerhetsfaktorerna är för många för att kunna dra slutsatser kring huruvida detta stämmer.

De två grupperna ”Thyroideapatologi” och ”Fryst innan” innehöll bara en individ per kategori, vilket gör att det inte går att sätta resultatet från de grupperna i ett större sammanhang utöver de två individerna. Sälens vars thyroidea hade varit fryst sedan innan hade också förekomst av makrofolliklar, vilket återspeglas tydligt i mätningen av follikelarean. Just de folliklarna var troligen inaktiva hos denna säl, men normal follikelvävnad fanns på andra ställen i preparatet.

Att manuellt räkna antalet folliklar eller mäta follikelarean utifrån histologiska bilder från thyroidea är en mycket tidskrävande metod, vilket gör att det inte är en speciellt passande metod att tillämpa i större utsträckning. Eftersom thyroideavikten återspeglade follikeltätheten relativt väl, är vikten ett betydligt enklare tillvägagångssätt att använda sig av för att i så fall få en skaplig uppfattning gällande antalet folliklar. Genom att mäta follikelarean fås ett kvantitativt mått på hur stora folliklarna är, vilket är en fördel vid jämförelse mellan grupper. Även detta var relativt tidskrävande. Ett sätt att förenkla denna metod hade varit att istället mäta follikeldiametern hos ett slumpmässigt antal folliklar i bilden, inte alla. Eventuellt skulle follikelantalet eller follikelarean, alternativt follikeldiametern, kunna användas i kombination med miljögiftsanalyser från sälarna. De sälar som uppmäter höga halter miljögifter kan därefter undersökas histologiskt, i syftet att undersöka om miljögifter verkar påverka dessa faktorer.

KONKLUSION

Denna studie ger en djupare förståelse för vad som kan betraktas vara normal thyroideavikt i relation till kroppslängden för gråsäl, något som kan ge vägledning under framtida obduktioner för vad som kan anses vara en förstörd eller förminskad sköldkörtel. Även om miljögifter tycks kunna påverka både thyroidea strukturellt och dess hormonproduktion, har ingen koppling kunnat göras i denna studie mellan patologiska förändringar och thyroideavikt, eller sälar som levt under förhållanden med högre miljögiftshalter i den marina miljön.

Att använda thyroideavikten som ett mått på organets funktionalitet är svårtolkat, då litteraturen gällande deras samband är motstridig och sparsam. Histologisk undersökning av thyroidea är isåfall en mer känslig metod för att upptäcka förändringar som skulle kunna vara miljögiftsrelaterade. För de miljögifter som är vanligare idag, såsom PFAS, är det inte fastställt om de ger lika stor påverkan på själva thyroideavävnaden som PCB, varför de förras effekt kan vara svår att utvärdera histologiskt. Ett alternativ för att detektera konsekvenser på thyroidea av PFAS skulle istället kunna vara att analysera TH-hormon hos levande eller nyss avlidna sälar, för att sedan korrelera det till halterna PFAS i levern. Genom att Naturhistoriska riksmuseet fortsätter sin övervakning över Sveriges sälpopulation är förhoppningen att tidigt kunna upptäcka onormala förändringar och därmed kunna förebygga massiva sjukdomskomplex likt Baltic Seal Disease Complex i framtiden.

POPULÄRVETENSKAPLIG SAMMANFATTNING

Miljögifter anses idag vara ett hot mot ett flertal vattenlevande djur i Östersjön, inklusive gråsälen. På uppdrag från Naturvårdsverket samlar Naturhistoriska riksmuseet (NRM) samlar årligen in sälar för obduktion från hela Sverige som upphittats döda, drunknat i fiskeredskap eller inkommit från säljakten, i syfte att övervaka sälpopulationen och tidigt kunna identifiera eventuell miljögiftspåverkan hos dessa djur. Gråsälen, *Halichoerus grypus*, är Sveriges vanligaste och största säl och dess utbredning är främst belägen längst med Östersjökusten. Eftersom sälar lever i toppen av näringskedjan, är de extra utsatta för miljögifter som ackumuleras i levande organismer då de får i sig stora mängder via födan. Detta gör att gråsälen blir en särskilt intressant art att granska i ett hårt miljöbelastat hav som Östersjön.

Denna studie har fokuserat på att undersöka vilken påverkan miljögifter skulle kunna ha på sköldkörteln hos gråsäl – ett organ som tidigare visat sig vara känsligt för yttre störningar liksom miljögifter. Sköldkörteln är ett hormonproducerande organ som är med och reglerar ett antal viktiga funktioner i kroppen, såsom metabolismen och kalciumhalten i blodet. Svårnedbrytbara miljögifter som PCB (polyklorerade bifenyler), PFAS (perfluorerade alkylsyror) och PBDE (bromerade flamskyddsmedel) verkar kunna påverka sköldkörteln både strukturellt och funktionellt, genom att bland annat interferera med sköldkörtelhormonernas verkningsmekanismer.

Utförande

Genom att jämföra sköldkörtelvikten med kroppsstorleken hos gråsäl som inkommit till NRM de senaste decennierna, har ett ungefärligt referensmaterial tagits fram gällande vad som kan anses vara normalvikt för sköldkörteln hos gråsäl. Ett flertal storleksvariabler (kroppsvikt, kroppslängd och hjärtvikt) jämfördes mellan varandra för att utreda vilken av dessa som till störst del kunde förklara sköldkörtelvikten. Andra faktorer som samverkan med sköldkörtelvikten, såsom späcktjocklek, vilken årstid sälen inkommit på och kön, undersöktes också. Sköldkörtelvikten från gråsäl som obducerades under 1980-talet, när halterna av miljögiftet PCB var som högst, har också jämförts med sälar som obducerats från 1990-talet och framåt, för att kunna detektera eventuell skillnad i sköldkörtelvikt mellan dessa grupper. Utifrån referensmaterialet har sedan ett antal individer som har ansetts ha normal eller avvikande sköldkörtelvikt undersökts mikroskopiskt. Även sälar som hade en anmärkning på sköldkörteln under obduktionen har inkluderats i den mikroskopiska undersökningen, liksom sälar från 1980-talet och ett par sälar vars sköldkörtelsvävnadsprover varit frusna tidigare.

Resultat & diskussion

Kroppslängden visade sig ha ett samband med sköldkörtelvikten mest av de storleksfaktorer som undersöktes. Av de övriga faktorerna hade endast kön, tillsammans med kroppslängden, ett statistiskt signifikant samband med sköldkörtelvikten. De sälar som obducerades under 1980-talet hade en något högre sköldkörtelvikt jämfört med de som obducerats under senare decennier, vilket eventuellt skulle kunna indikera en PCB-påverkan på de sköldkörtlar i den förstnämnda gruppen, då PCB experimentellt har visats kunna öka sköldkörtelvikten hos försöksdjur. Ett antal sjukliga förändringar hittades i sköldkörtelproverna som undersöktes mikroskopiskt, men kunde inte relateras till varken avvikande organstorlek eller om sälen obducerats under 1980-talet.

Sammanfattningsvis ger denna studie en djupare förståelse gällande vad som kan betraktas vara normal sköldkörtelvikt i relation till kroppslängden för gråsäl, något som kan ge vägledning under framtida arbete. En tydlig koppling mellan miljögifter och sköldkörtelpåverkan hos gråsäl har dock inte kunnat påvisas i denna studie. Vidare forskning gällande hur miljögifter påverkar djurlivet i Sverige är av största vikt, för att på så sätt kunna kartlägga miljögifters negativa effekter och därmed ha en chans att förhindra dem.

TACK

Stort tack till min handledare Sara Persson, som har varit ett stöd under hela arbetsprocessen och som alltid kommit med smarta funderingar och feedback. Tack till Yongzhi Guo som med stort tålamod och glädje vägledde mig och lärde mig att göra egna histologiska snitt. Tack till Martin Sköld som hjälpte till med statistiken på ett föredömligt sätt och som snabbt svarade på frågor som dök upp under arbetets gång. Tack till Eva Hellmén som var med och tolkade kluriga histologiska snitt. Slutligen tack till min examinerare, Ulf Magnusson, som hjälpte till att få de sista pusselbitarna på plats. Utan er hade detta examensarbete inte varit möjligt!

REFERENSER

- Aberle, S.D. & Landauer, W. (1935). Thyroid weight and sex in newly hatched chicks. *The Anatomical Record*, vol. 62 (4), ss. 331–335. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.1090620402>
- Ahrens, L., Siebert, U. & Ebinghaus, R. (2009). Temporal trends of polyfluoroalkyl compounds in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the German Bight, 1999–2008. *Chemosphere*, vol. 76 (2), ss. 151–158. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.03.053>
- Almqvist, L., Olsson, M. & Söderberg, S. (1980). *Säljar i Sverige*. Svenska Naturskyddsföreningen, Stockholm. Svenska Naturskyddsföreningen.
- Anton, R.C. & Wheeler, T.M. (2005). Frozen section of thyroid and parathyroid specimens. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, vol. 129 (12), ss. 1575–1584
- ArtDatabanken (2019a). *Gråsäl - Artfakta från ArtDatabanken SLU*. Tillgänglig: <https://artfakta.se/artbestamning/taxon/100068> [2019-09-18]
- ArtDatabanken (2019b). *Knubbsäl - Artfakta från ArtDatabanken SLU*. Tillgänglig: <https://artfakta.se/artbestamning/taxon/phoca-vitulina-102708> [2019-09-19]
- ArtDatabanken (2019c). *Vikare - Artfakta från ArtDatabanken SLU*. Tillgänglig: <https://artfakta.se/artbestamning/taxon/pusa-hispida-100104> [2019-09-19]
- Bailey, S.A., Zidell, R.H. & Perry, R.W. (2004). Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: What is the best analytical endpoint? *Toxicologic Pathology*, vol. 32 (4), ss. 448–466. DOI: <https://doi.org/10.1080/01926230490465874>
- Baltic Eye (2015). *Basfakta: Livet i Östersjön - Baltic Eye*. balticeye.org. Tillgänglig: <https://balticeye.org/sv/livsmiljoer/basfakta-livet-i-ostersjon/> [2019-09-17]
- BalticSea (2019). *Östersjöns utmaningar*. Tillgänglig: <http://balticsea2020.org/oestersjoens-utmaningar> [2019-09-20]
- Baraibar, M.A. & Schoning, P. (1985). Effects of freezing and frozen storage on histological characteristics of canine tissues. *Journal of Forensic Science*, vol. 30 (2), ss. 439–447. DOI: <https://doi.org/10.1520/JFS11823J>
- Berg, V., Haugdahl Nøst, T., Hansen, S., Elverland, A., Veyhe, A.-S., Jorde, R., Øyvind Odland, J. & Manning Sandanger, T. (2015). Assessing the relationship between perfluoroalkyl substances, thyroid hormones and binding proteins in pregnant women; a longitudinal mixed effects approach. *Environment International*, vol. 77, ss. 63–69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.007>
- Borja, J., Taleon, D.M., Auresenia, J. & Gallardo, S. (2005). Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, vol. 40 (6), ss. 1999–2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.08.006>
- Bossi, R., Riget, F.F. & Dietz, R. (2005). Temporal and spatial trends of perfluorinated compounds in ringed seal (*Phoca hispida*) from Greenland. *Environmental Science & Technology*, vol. 39 (19), ss. 7416–7422. DOI: <https://doi.org/10.1021/es0508469>
- Bourgeon, S., Riemer, A.K., Tartu, S., Aars, J., Polder, A., Jenssen, B.M. & Routti, H. (2017). Potentiation of ecological factors on the disruption of thyroid hormones by organo-halogenated contaminants in female polar bears (*Ursus maritimus*) from the Barents Sea. *Environmental Research*, vol. 158, ss. 94–104. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.05.034>
- Bowen, W.D. & Harrison, G.D. (1994). Offshore diet of grey seals *Halichoerus grypus* near Sable Island, Canada. *Marine Ecology Progress Series*, vol. 112 (1), ss. 1–11. Tillgänglig:

<https://www.jstor.org/stable/24847633> [2019-09-19]

- Braverman, L.E. & Cooper, D.S. (2012). *Werner & Ingbar's The Thyroid*. Philadelphia, UNITED STATES: Wolters Kluwer. Tillgänglig: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=3417850>
- Brouwer, A., Reijnders, P.J.H. & Koeman, J.H. (1989). Polychlorinated biphenyl (PCB)-contaminated fish induces vitamin A and thyroid hormone deficiency in the common seal (*Phoca vitulina*) - ScienceDirect. *Aquatic Toxicology*, vol. 15 (1), ss. 99–105. DOI: [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(89\)90008-8](https://doi.org/10.1016/0166-445X(89)90008-8)
- Bäcklin, B.-M., Moraeus, C., Roos, A. & Bergman, A. (2010). Gråsälén som indikator. *Havet.nu*. Tillgänglig: <https://www.havet.nu/dokument/Havet2010-salar.pdf> [2019-09-17]
- Bäcklin, B.-M., Moraeus, C., Strömberg, A., Härkönen, T. & Karlsson, O. (2017). *Undersökning av sälar insamlade 2015*. (Rapport nr 6:2017). Naturhistoriska Riksmuseet. Tillgänglig: <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:1136468/FULLTEXT01.pdf> [2019-10-22]
- Calsolaro, V., Pasqualetti, G., Niccolai, F., Caraccio, N. & Monzani, F. (2017). Thyroid disrupting chemicals. *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18 (12). DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms18122583>
- Carlé, A., Pedersen, I.B., Knudsen, N., Perrild, H., Ovesen, L., Jørgensen, T. & Laurberg, P. (2009). Thyroid volume in hypothyroidism due to autoimmune disease follows a unimodal distribution: Evidence against primary thyroid atrophy and autoimmune thyroiditis being distinct diseases. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 94 (3), ss. 833–839. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1370>
- Chang, S.-C., Thibodeaux, J.R., Eastvold, M.L., Ehresman, D.J., Bjork, J.A., Froehlich, J.W., Lau, C., Singh, R.J., Wallace, K.B. & Butenhoff, J.L. (2008). Thyroid hormone status and pituitary function in adult rats given oral doses of perfluorooctanesulfonate (PFOS). *Toxicology*, vol. 243 (3), ss. 330–339. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.10.014>
- Chauhan, K.R., Kodavanti, P.R. & McKinney, J.D. (2000). Assessing the role of ortho-substitution on polychlorinated biphenyl binding to transthyretin, a thyroxine transport protein. *Toxicology and Applied Pharmacology*, vol. 162 (1), ss. 10–21
- Cheek, A.O., Kow, K., Chen, J. & McLachlan, J.A. (1999). Potential mechanisms of thyroid disruption in humans: interaction of organochlorine compounds with thyroid receptor, transthyretin, and thyroid-binding globulin. *Environmental Health Perspectives*, vol. 107 (4), ss. 273–278. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1566512/>
- Chiba, I., Sakakibara, A., Goto, Y., Isono, T., Yamamoto, Y., Iwata, H., Tanabe, S., Shimazaki, K., Akahori, F., Kazusaka, A. & Fujita, S. (2001). Negative correlation between plasma thyroid hormone levels and chlorinated hydrocarbon levels accumulated in seals from the coast of Hokkaido, Japan. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 20 (5), ss. 1092–1097. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.5620200521>
- Collins, W.T., Capen, C.C., Kasza, L., Carter, C. & Dailey, R.E. (1977). Effect of polychlorinated biphenyl (PCB) on the thyroid gland of rats. *The American Journal of Pathology*, vol. 89 (1), ss. 119–136. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2032202/>
- Cowan, D.F. & Tajima, Y. (2006). The thyroid gland in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Texas coast of the Gulf of Mexico: Normal structure and pathological changes. *Journal of Comparative Pathology*, vol. 135 (4), ss. 217–225. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2006.07.003>

- Das, K., Vossen, A., Tolley, K., Víkingsson, G., Thron, K., Müller, G., Baumgärtner, W. & Siebert, U. (2006). Interfollicular fibrosis in the thyroid of the harbour porpoise: An endocrine disruption? *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 51 (4), ss. 720–729. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00244-005-0098-4>
- Debier, C., Pomeroy, P.P., Dupont, C., Joiris, C., Comblin, V., Le Boulenge, E., Larondelle, Y. & Thomé, J.-P. (2003). Quantitative dynamics of PCB transfer from mother to pup during lactation in UK grey seals *Halichoerus grypus*. *Marine Ecology. Progress Series*, vol. 247. Tillgänglig: <https://www.int-res.com/articles/meps2003/247/m247p237.pdf> [2019-09-26]
- DeWitt, J.C. (red.) (2015). *Toxicological Effects of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances*. Cham: Springer International Publishing. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15518-0>
- Faggiano, A., Coulot, J., Bellon, N., Talbot, M., Caillou, B., Ricard, M., Bidart, J.-M. & Schlumberger, M. (2004). Age-dependent variation of follicular size and expression of iodine transporters in human thyroid tissue. *Journal of Nuclear Medicine*, vol. 45 (2), ss. 232–237
- Fernie, K.J., Shutt, J.L., Mayne, G., Hoffman, D., Letcher, R.J., Drouillard, K.G. & Ritchie, I.J. (2005). Exposure to Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs): Changes in thyroid, vitamin A, glutathione homeostasis, and oxidative stress in American kestrels (*Falco sparverius*). *Toxicological Sciences*, vol. 88 (2), ss. 375–383. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfi295>
- Galatius, A., Bossi, R., Sonne, C., Rigét, F.F., Kinze, C.C., Lockyer, C., Teilmann, J. & Dietz, R. (2013). PFAS profiles in three North Sea top predators: metabolic differences among species? *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 20 (11), ss. 8013–8020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1633-x>
- Gómez, J.M., Maravall, F.J., Gómez, N., Gumà, A. & Soler, J. (2000). Determinants of thyroid volume as measured by ultrasonography in healthy adults randomly selected. *Clinical Endocrinology*, vol. 53 (5), ss. 629–634. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2000.01138.x>
- Haensly, W.E. & Getty, R. (1970). Age changes in the weight of the thyroid glands of swine from birth to eight years. *Experimental Gerontology*, vol. 5 (3), ss. 203–211. DOI: [https://doi.org/10.1016/0531-5565\(70\)90039-2](https://doi.org/10.1016/0531-5565(70)90039-2)
- Hall, A.J., Kalantzi, O.I. & Thomas, G.O. (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in grey seals during their first year of life—are they thyroid hormone endocrine disrupters? *Environmental Pollution*, vol. 126 (1), ss. 29–37. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00149-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00149-0)
- Hall, A.J. & Thomas, G.O. (2007). Polychlorinated biphenyls, DDT, polybrominated diphenyl ethers, and organic pesticides in United Kingdom harbor seals (*Phoca vitulina*)—mixed exposures and thyroid homeostasis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 26 (5), ss. 851–861. DOI: <https://doi.org/10.1897/06-310R.1>
- Hallgren, S., Sinjari, T., Håkansson, H. & Darnerud, P. (2001). Effects of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on thyroid hormone and vitamin A levels in rats and mice. *Archives of Toxicology*, vol. 75 (4), ss. 200–208. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002040000208>
- Harrison, R.J., Rowlands, I.W., Whitting, H.W. & Young, B.A. (1962). Growth and structure of the thyroid gland in the common seal (*Phoca vitulina*). *Journal of Anatomy*, vol. 96 (Pt 1), ss. 3–15. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1244168/>
- Havet.nu (2019). *Havet.nu - Många miljöproblem*. Tillgänglig: <https://www.havet.nu/?d=30> [2019-09-20]

- Havs- och vattenmyndigheten (2012). *Nationell förvaltningsplan för gråsäl (*Halichoerus grypus*) i Östersjön*. Göteborg: Havs- och vattenmyndigheten. [2019-09-19]
- Havs- och vattenmyndigheten (2019). *Hur många sälar finns det i våra vatten?* [text]. Tillgänglig: <https://www.havochvatten.se/hav/fiske--fritid/arter/arter-och-naturtyper/grasal/fragor-och-svar-om-sal/faq-sal/2019-04-18-hur-manga-salar-finns-det-i-vara-vatten.html> [2019-10-21]
- Hegedüs, L., Perrild, H., Poulsen, L.R., Andersen, J.R., Holm, B., Schnohr, P., Jensen, G. & Hansen, J.M. (1983). The determination of thyroid volume by ultrasound and its relationship to body weight, age, and sex in normal subjects. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 56 (2), ss. 260–263. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem-56-2-260>
- HELCOM (2009). *Eutrophication in the Baltic Sea – An integrated thematic assessment of the effects of nutrient enrichment in the Baltic Sea region*. (115B). Baltic Sea Environment Proceedings. Tillgänglig: www.helcom.fi/publications [2019-09-20]
- Helle, E., Olsson, M. & Jensen, S. (1976). PCB levels correlated with pathological changes in seal uteri. *Ambio*, vol. 5 (5/6), ss. 261–262. Tillgänglig: <https://www.jstor.org/stable/4312230> [2019-09-24]
- Hoffmann, E. & Shaffner, C.S. (1950). Thyroid weight and function as influenced by environmental temperature. *Poultry Science*, vol. 29 (3), ss. 365–376. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0290365>
- Hovden, T.S. (2018). *Thyroid hormone status and thyroid gland histology in PFAS- and mercury contaminated glaucous gulls (*Larus hyperboreus*) from Svalbard*. Tillgänglig: <https://ntnuopen.ntnu.no/ntnu-xmlui/handle/11250/2503832> [2019-10-08]
- Humborg, C., Geibel, M.C., Sun, X., McCrackin, M., Mörth, C.-M., Stranne, C., Jakobsson, M., Gustafsson, B., Sokolov, A., Norkko, A. & Norkko, J. (2019). High emissions of carbon dioxide and methane from the coastal Baltic sea at the end of a summer heat wave. *Frontiers in Marine Science*, vol. 6. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00493>
- Höhn, E. (1949). Seasonal changes in the thyroid gland and effects of thyroidectomy in the mallard, in relation to moult. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, vol. 158 (3), ss. 337–344
- Höhn, E.O. & Braun, C.E. (1977). Seasonal thyroid gland histophysiology and weight in White-tailed ptarmigan. *The Auk*, vol. 94 (3), ss. 544–551. Tillgänglig: <http://www.jstor.org/stable/4085220>
- Jefferies, D. & French, M. (1969). Avian thyroid: effect of p, p'-DDT on size and activity. *Science*, vol. 166 (3910), ss. 1278–1280
- John, T.M., Ronald, K. & George, J.C. (1987). Blood levels of thyroid hormones and certain metabolites in relation to moult in the harp seal (*Phoca groenlandica*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, vol. 88 (4), ss. 655–657. DOI: [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(87\)90678-5](https://doi.org/10.1016/0300-9629(87)90678-5)
- Jones, P.D., Hu, W., De Coen, W., Newsted, J.L. & Giesy, J.P. (2003). Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 22 (11), ss. 2639–2649. DOI: <https://doi.org/10.1897/02-553>
- de Jongh, F., Jöbsis, A. & Elte, J. (1997). The influence of acute and chronic illness on thyroid weight. *Netherlands Journal of Medicine*, vol. 5 (50), s. A21
- Jugan, M.-L., Levi, Y. & Blondeau, J.-P. (2010). Endocrine disruptors and thyroid hormone physiology. *Biochemical Pharmacology*, vol. 79 (7), ss. 939–947
- Kemikalieinspektionen (2012). *Kunskapssammanställning av forskning relaterad till hormonstörande*

- ämnen i Sverige 2005-2011. Sundbyberg: Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet. Tillgänglig: <https://www.kemi.se/global/pm/2012/pm-13-12-kunskapssammanstallning-homonstora-amnen.pdf> [2019-10-22]
- Kemikalieinspektionen (2016). *Perfluoroktansulfonat (PFOS)*. Tillgänglig: <https://www.kemi.se/priorstart/kemikalier-i-praktiken/kemikaliegrupper/perfluoroktansulfonat-pfos> [2019-09-25]
- Kemikalieinspektionen (2019). *Kort om flamskyddsmedel*. Tillgänglig: <https://www.kemi.se/privatpersoner/kemiska-amnen/flamskyddsmedel> [2019-09-26]
- Kirkegaard, M., Sonne, C., Leifsson, P.S., Dietz, R., Born, E.W., Muir, D.C.G. & Letcher, R.J. (2005). Histology of selected immunological organs in polar bear (*Ursus maritimus*) from East Greenland in relation to concentrations of organohalogen contaminants. *Science of the Total Environment*, vol. 341 (1–3), ss. 119–132. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.09.034>
- Kitamura, S., Shinohara, S., Iwase, E., Sugihara, K., Uramaru, N., Shigematsu, H., Fujimoto, N. & Ohta, S. (2008). Affinity for thyroid hormone and estrogen receptors of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers. *Journal of Health Science*, vol. 54 (5), ss. 607–614. DOI: <https://doi.org/10.1248/jhs.54.607>
- Klaasen, C.D. (2007). *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*. McGraw-Hill Professional.
- Korpinen, S., Meski, L., Andersen, J.H. & Laamanen, M. (2012). Human pressures and their potential impact on the Baltic Sea ecosystem. *Ecological Indicators*, vol. 15 (1), ss. 105–114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.09.023>
- Kroner, A.-M., Olsen, M.T., Kindt-Larsen, L., Larsen, F. & Lundström, K. (2018). Molecular determination of grey seal diet in the Baltic Sea in relation to the current seal-fishery conflict. *Proceedings of 32nd Conference of the European Cetacean Society*, 2018. ss. 110–110. European Cetacean Society
- Königson, S., Fjälling, A. & Lunneryd, S.-G. (2005). Impact of grey seals on the herring gillnet fishery along the Swedish Baltic coast. *Institute of Coastal Research, Swedish Board of Fisheries. ICES CM*, vol. 10, s. 12
- Lema, S.C., Dickey, J.T., Schultz, I.R. & Swanson, P. (2008). Dietary exposure to 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (PBDE-47) alters thyroid status and thyroid hormone-regulated gene transcription in the pituitary and brain. *Environmental Health Perspectives*, vol. 116 (12), ss. 1694–1699. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.11570>
- Li, Y., Fletcher, T., Mucs, D., Scott, K., Lindh, C.H., Tallving, P. & Jakobsson, K. (2018). Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occupational and Environmental Medicine*, vol. 75 (1), ss. 46–51. DOI: <https://doi.org/10.1136/oemed-2017-104651>
- Lundström, K., Hjerne, O., Alexandersson, K. & Karlsson, O. (2007). Estimation of grey seal (*Halichoerus grypus*) diet composition in the Baltic Sea. *NAMMCO Scientific Publications*, vol. 6, ss. 177–196
- Martin, J.W., Smithwick, M.M., Braune, B.M., Hoekstra, P.F., Muir, D.C.G. & Mabury, S.A. (2004). Identification of long-chain perfluorinated acids in biota from the Canadian arctic. *Environmental Science & Technology*, vol. 38 (2), ss. 373–380. DOI: <https://doi.org/10.1021/es034727+>
- Mayes, B., Mc Connell, E., Neal, B., Brunner, M., Hamilton, S., Peters, A., Ryan, M., Toft, J., Singer,

- A. & Brown Jr, J. (1998). Comparative carcinogenicity in Sprague-Dawley rats of the polychlorinated biphenyl mixtures Aroclors 1016, 1242, 1254, and 1260. *Toxicological Sciences*, vol. 41 (1), ss. 62–76
- McKinney, J.D. & Waller, C.L. (1994). Polychlorinated biphenyls as hormonally active structural analogues. *Environmental Health Perspectives*, vol. 102 (3), ss. 290–297. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1567120/>
- Mestdagh, C., Many, M.-C., Halpern, S., Briançon, C., Fragu, P. & Denef, J.-F. (1990). Correlated autoradiographic and ion-microscopic study of the role of iodine in the formation of “cold” follicles in young and old mice. *Cell and Tissue Research*, vol. 260 (3), ss. 449–457
- Miyazaki, W., Iwasaki, T., Takeshita, A., Kuroda, Y. & Koibuchi, N. (2004). Polychlorinated biphenyls suppress thyroid hormone receptor-mediated transcription through a novel mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279 (18), ss. 18195–18202. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M310531200>
- Morgado, I., Hamers, T., Van der Ven, L. & Power (2007). Disruption of thyroid hormone binding to sea bream recombinant transthyretin by ioxinyl and polybrominated diphenyl ethers. *Chemosphere*, vol. 69 (1), ss. 155–163. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.04.010>
- Naturvårdsverket (2019). *Flamskyddsmedel i miljön. Naturvårdsverket*. [text]. Tillgänglig: <https://www.naturvardsverket.se/Sa-mar-miljon/Manniska/Miljogifter/Organiska-miljogifter/Flamskyddsmedel/> [2019-09-26]
- Neal, J.M. (2016). *How the Endocrine System Works*. New York, UNITED KINGDOM: John Wiley & Sons, Incorporated. Tillgänglig: <http://ebookcentral.proquest.com/lib/slub-ebooks/detail.action?docID=4356813>
- Nyberg, E., Faxneld, S., Danielsson, S., Eriksson, U., Miller, A. & Bignert, A. (2015). Temporal and spatial trends of PCBs, DDTs, HCHs, and HCB in Swedish marine biota 1969–2012. *AMBIO*, vol. 44 (S3), ss. 484–497. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13280-015-0673-5>
- Pereira, C., Mapuskar, K. & Rao, C.V. (2007). A two-generation chronic mixture toxicity study of Clophen A60 and diethyl phthalate on histology of adrenal cortex and thyroid of rats. *Acta Histochemica*, vol. 109 (1), ss. 29–36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2006.09.008>
- Perry, R.J., Hollman, A.S., Wood, A.M. & Donaldson, M.D.C. (2002). Ultrasound of the thyroid gland in the newborn: normative data. *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, vol. 87 (3), ss. 209F – 211. DOI: <https://doi.org/10.1136/fn.87.3.F209>
- Preedy, V.R., Burrow, G.N. & Watson, R.R. (2009). *Comprehensive Handbook of Iodine: Nutritional, Biochemical, Pathological and Therapeutic Aspects*. Academic Press.
- Rahman, F., Langford, K.H., Scrimshaw, M.D. & Lester, J.N. (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Science of the Total Environment*, vol. 275 (1–3), ss. 1–17. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00852-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00852-X)
- Riddle, O. (1929). The inheritance of thyroid size and the establishment of thyroid races in Ring Doves. *The American Naturalist*, vol. 63 (688), ss. 385–409. Tillgänglig: <http://www.jstor.org/stable/2457094>
- Riddle, O. & Fisher, W.S. (1925). Seasonal variation of thyroid size in pigeons. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, vol. 72 (3), ss. 464–487
- Roegge, C.S., Wang, V.C., Powers, B.E., Klintsova, A.Y., Villareal, S., Greenough, W.T. & Schantz,

- S.L. (2004). Motor impairment in rats exposed to PCBs and methylmercury during early development. *Toxicological Sciences*, vol. 77 (2), ss. 315–324. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg252>
- Roos, A., Bäcklin, B.-M., Ericson Jogsten, I., Wang, T., Awad, R. & Benskin, J. (2019). *POPs, PFAS and metals in ringed seals (Pusa hispida botnica) from the Baltic 1978-2015*. Tillgänglig: <http://www.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A1355194&dswid=-1117> (2020-01-07)
- Roos, A.M., Eriksson, U.C., Bäcklin, B.-M., Helander, B.O. & Rigét, F.F. (2012). Improved reproductive success in otters (*Lutra lutra*), grey seals (*Halichoerus grypus*) and sea eagles (*Haliaeetus albicilla*) from Sweden in relation to concentrations of organochlorine contaminants. *Environmental Pollution*, vol. 170, ss. 268–275. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.07.017>
- Ross, G. (2004). The public health implications of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 59 (3), ss. 275–291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.003>
- Rotander, A., van Bavel, B., Polder, A., Rigét, F., Auðunsson, G.A., Gabrielsen, G.W., Víkingsson, G., Bloch, D. & Dam, M. (2012). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in marine mammals from Arctic and North Atlantic regions, 1986–2009. *Environment International*, vol. 40, ss. 102–109. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.07.001>
- Routti, H., Nyman, M., Jenssen, B.M., Bäckman, C., Koistinen, J. & Gabrielsen, G.W. (2008). Bone-related effects of contaminants in seals may be associated with vitamin D and thyroid hormones. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 27 (4), ss. 873–880. DOI: <https://doi.org/10.1897/07-139.1>
- Sari, R., Balci, M.K., Altunbas, H. & Karayalcin, U. (2003). The effect of body weight and weight loss on thyroid volume and function in obese women. *Clinical Endocrinology*, vol. 59 (2), ss. 258–262. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2003.01836.x>
- Schumacher, U., Zahler, S., Horny, H.P., Heidemann, G., Skirnisson, K. & Welsch, U. (1993). Histological investigations on the thyroid glands of marine mammals (*Phoca vitulina*, *Phocoena phocoena*) and the possible implications of marine pollution. *Journal of Wildlife Diseases*, vol. 29 (1), ss. 103–108
- Seacat, A.M., Thomford, P.J., Hansen, K.J., Olsen, G.W., Case, M.T. & Butenhoff, J.L. (2002). Subchronic toxicity studies on perfluorooctanesulfonate potassium salt in Cynomolgus Monkeys. *Toxicological Sciences*, vol. 68 (1), ss. 249–264. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/68.1.249>
- Sellström, U., Jansson, B., Kierkegaard, A., de Wit, C., Odsjö, T. & Olsson, M. (1993). Polybrominated diphenyl ethers (PBDE) in biological samples from the Swedish environment. *Chemosphere*, vol. 26 (9), ss. 1703–1718. DOI: [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(93\)90114-K](https://doi.org/10.1016/0045-6535(93)90114-K)
- Shaw, S., Berger, M.L., Brenner, D., Tao, L., Wu, Q. & Kannan, K. (2009). Specific accumulation of perfluorochemicals in harbor seals (*Phoca vitulina concolor*) from the northwest Atlantic. *Chemosphere*, vol. 74 (8), ss. 1037–1043. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.10.063>
- Sinkkonen, S. & Paasivirta, J. (2000). Degradation half-life times of PCDDs, PCDFs and PCBs for environmental fate modeling. *Chemosphere*, vol. 40 (9–11), ss. 943–949. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00337-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00337-9)
- SMHI (2017). *Övergödning av havet | SMHI*. Tillgänglig: <https://www.smhi.se/kunskapsbanken/oceanografi/overgodning-av-havet-1.6006> [2019-09-20]
- SMHI (2019). *Klimatindikator - temperatur | SMHI*. Tillgänglig: <https://www.smhi.se/klimat/klimatet-da-och-nu/klimatindikatorer/klimatindikator-temperatur-1.2430> [2019-12-02]

- Smithwick, M., Muir, D.C.G., Mabury, S.A., Solomon, K.R., Martin, J.W., Sonne, C., Born, E.W., Letcher, R.J. & Dietz, R. (2005). Perfluoroalkyl contaminants in liver tissue from East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 24 (4), ss. 981–986. DOI: <https://doi.org/10.1897/04-258R.1>
- Sonstegard, R.A. & Leatherland, J.F. (1979). Hypothyroidism in rats fed Great Lakes coho salmon. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, vol. 22 (1), ss. 779–784
- Soukup, T., Zacharová, G., Smerdu, V. & Jirmanová, I. (2001). Body, heart, thyroid gland and skeletal muscle weight changes in rats with altered thyroid status. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, vol. 50, ss. 619–26
- St. Aubin, D., Ridgway, S.H., Wells, R. & Rhinehart, H. (1996). Dolphin thyroid and adrenal hormones: circulating levels in wild and semidomesticated *Tursiops truncatus*, and influence of sex, age, and season. *Marine Mammal Science*, vol. 12 (1), ss. 1–13
- Stirling, G.A. (1962). The thyroid in malnutrition. *Archives of Disease in Childhood*, vol. 37 (191), ss. 99–102. Tillgänglig: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2018868/>
- Svenskt Vatten (2015). *Rapport om högfluorerade ämnen i konsumtionsprodukter*. (M142)
- Tabuchi, M., Veldhoen, N., Dangerfield, N., Jefferies, S., Helbing, C.C. & Ross, P.S. (2006). PCB-related alteration of thyroid hormones and thyroid hormone receptor gene expression in free-ranging Harbor Seals (*Phoca vitulina*). *Environmental Health Perspectives*, vol. 114 (7), ss. 1024–1031. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.8661>
- Thibodeaux, J.R., Hanson, R.G., Rogers, J.M., Grey, B.E., Barbee, B.D., Richards, J.H., Butenhoff, J.L., Stevenson, L.A. & Lau, C. (2003). Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. I: Maternal and Prenatal Evaluations. *Toxicological Sciences*, vol. 74 (2), ss. 369–381. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg121>
- Turner, J.P., Clark, L.S., Haubold, E.M., Worthy, G.A.J. & Cowan, D.F. (2006). Organ weights and growth profiles in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the northwestern Gulf of Mexico. *Aquatic Mammals*, vol. 32 (1), ss. 46–57. DOI: <https://doi.org/10.1578/AM.32.1.2006.46>
- Tverin, M., Esparza-Salas, R., Strömberg, A., Tang, P., Kokkonen, I., Herrero, A., Kauhala, K., Karlsson, O., Tiilikainen, R., Vetemaa, M., Sinisalo, T., Käkälä, R. & Lundström, K. (2019). Complementary methods assessing short and long-term prey of a marine top predator – Application to the grey seal-fishery conflict in the Baltic Sea. *PLOS ONE*, vol. 14 (1), s. e0208694. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208694>
- Vargas, F., Atucha, N.M., Sabio, J.M., Quesada, T. & García-Estañ, J. (1994). Pressure-diuresis-natriuresis response in hyperthyroid and hypothyroid rats. *Clinical Science (London, England: 1979)*, vol. 87 (3), ss. 323–328
- Villanger, G.D., Gabrielsen, K.M., Kovacs, K.M., Lydersen, C., Lie, E., Karimi, M., Sørmo, E.G. & Jensen, B.M. (2013). Effects of complex organohalogen contaminant mixtures on thyroid homeostasis in hooded seal (*Cystophora cristata*) mother–pup pairs. *Chemosphere*, vol. 92 (7), ss. 828–842. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.04.036>
- Wizelius, T. (1999). *Organiska miljögifter, ett globalt miljöproblem: en presentation på overhead*. Stockholm: Naturvårdsverket.
- Zhang, Y., Guo, G.L., Han, X., Zhu, C., Kilfoy, B.A., Zhu, Y., Boyle, P. & Zheng, T. (2008). Do polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) increase the risk of thyroid cancer? *Bioscience Hypotheses*, vol. 1 (4), ss. 195–199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bihy.2008.06.003>

Zhou, T., Ross, D.G., DeVito, M.J. & Crofton, K.M. (2001). Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. *Toxicological Sciences*, vol. 61 (1), ss. 76–82. DOI: <https://doi.org/10.1093/toxsci/61.1.76>