

Μακροχρόνιες επιδράσεις της έκθεσης σε αιθινυλοιστραδιόλη στην μορφολογία των ωτολίθων του zebrafish (*Danio rerio*)

Γρηγόριος Πολίτης
Επιβλέπων: Γεώργιος Κουμουνδούρος

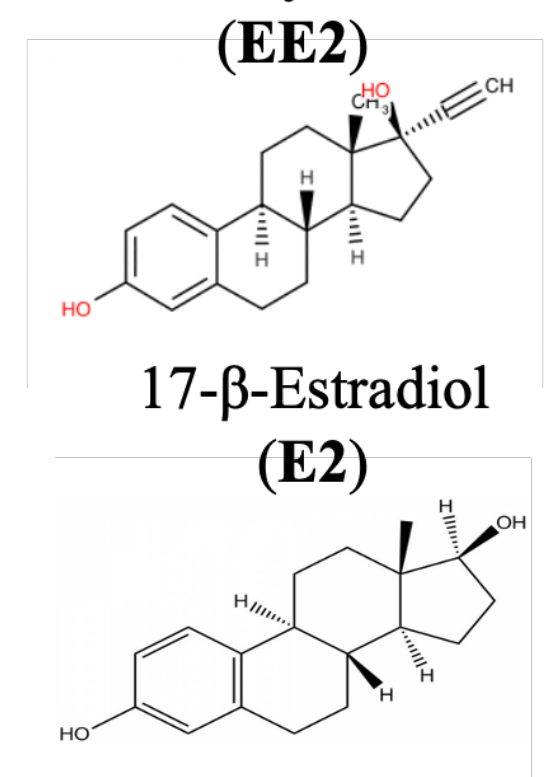
Υπόβαθρο

- Η 17α-Αιθινυλοιστραδιόλη (EE2) είναι **συνθετικό οιστρογόνο** που χρησιμοποιείται ευρέως σε **αντισυλληπτικά φάρμακα** και σε ορμονικές θεραπείες. “Endocrine Disrupting Chemicals” (EDCs), ονομάζονται οι ουσίες οι οποίες διαταράσσουν τα μεταβολικά μονοπάτια που σχετίζονται με το ενδοκρινικό σύστημα.
- Η δράση της EE2 μιμείται αυτή του φυσικού οιστρογόνου της 17β-οιστραδιόλης (E2), αλλά οι φυσικοχημικές της ιδιότητες της προσδίδουν **10-50 φορές μεγαλύτερη** δραστηριότητα, ενώ της επιτρέπουν να **βιοσυσσωρεύεται**. Συνεπώς, οι θαλάσσιοι οργανισμοί δεν εκτίθενται στην EE2 μόνο επειδή υπάρχει στο νερό, αλλά και γιατί την προσλαμβάνουν και μέσω της τροφής τους.
- Η EE2 μπορεί να προκαλέσει ένα σύνολο φυσιολογικών διαταραχών στα ψάρια και κυρίως στο αναπαραγωγικό τους σύστημα. Επίσης, προκαλεί νευροτοξικότητα, προβλήματα συμπεριφοράς και έχει αποδειχθεί πως μπορεί να οδηγήσει πληθυσμούς μέχρι και σε εξαφάνιση. Τέλος, είναι γνωστό ότι, κάποιες **επιπτώσεις της EE2 στα ψάρια** είναι **αναστρέψιμες** και κάποιες **επίμονες**. (Aris *et al.*, 2014)

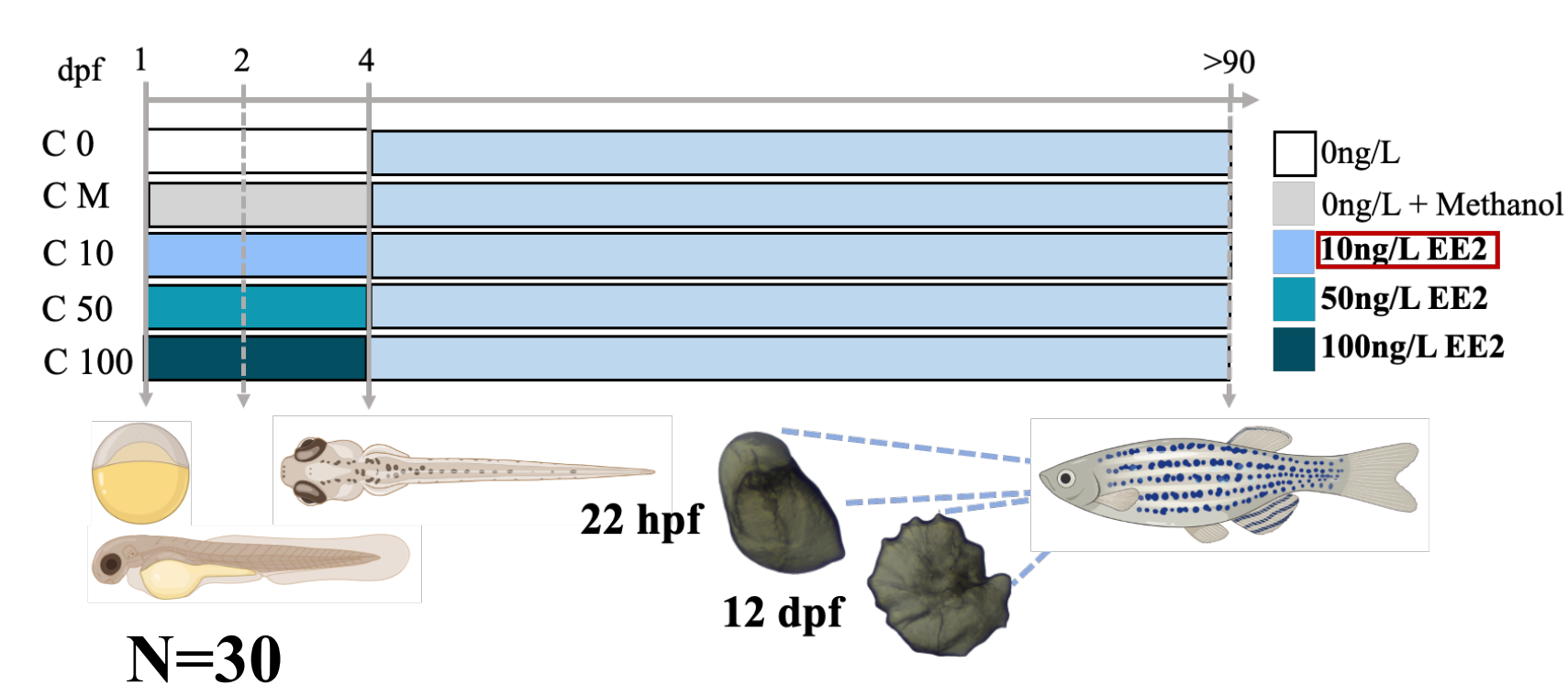
Προσέγγιση

Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιώντας ως οργανισμό μοντέλο το *Danio rerio*, σχεδιάστηκαν δύο πειράματα, ώστε να ελεγχθούν τα **μακροπρόθεσμα αποτελέσματα** της αρχικής έκθεσης σε EE2, στην **μορφολογία των ωτολίθων**. Στο πρώτο, η EE2 ήταν διαλυμένη στο νερό (σε συγκεντρώσεις 10, 50, 100ng/L) και η έκθεση έγινε κατά τη διάρκεια του **εμβρυικού και του αυτότροφου νυμφικού σταδίου**, ενώ στο δεύτερο η EE2 χορηγήθηκε μέσω της **τροφής** (σε συγκεντρώσεις 1, 5μg/g τροφής) κατά τη διάρκεια του **νυμφικού σταδίου**. Όταν τα ψάρια και από τα δύο πειράματα ήταν **ενήλικα**, έγινε ανάλυση της μορφολογίας των *asteriscii* και *lapillii* ωτολίθων τους.

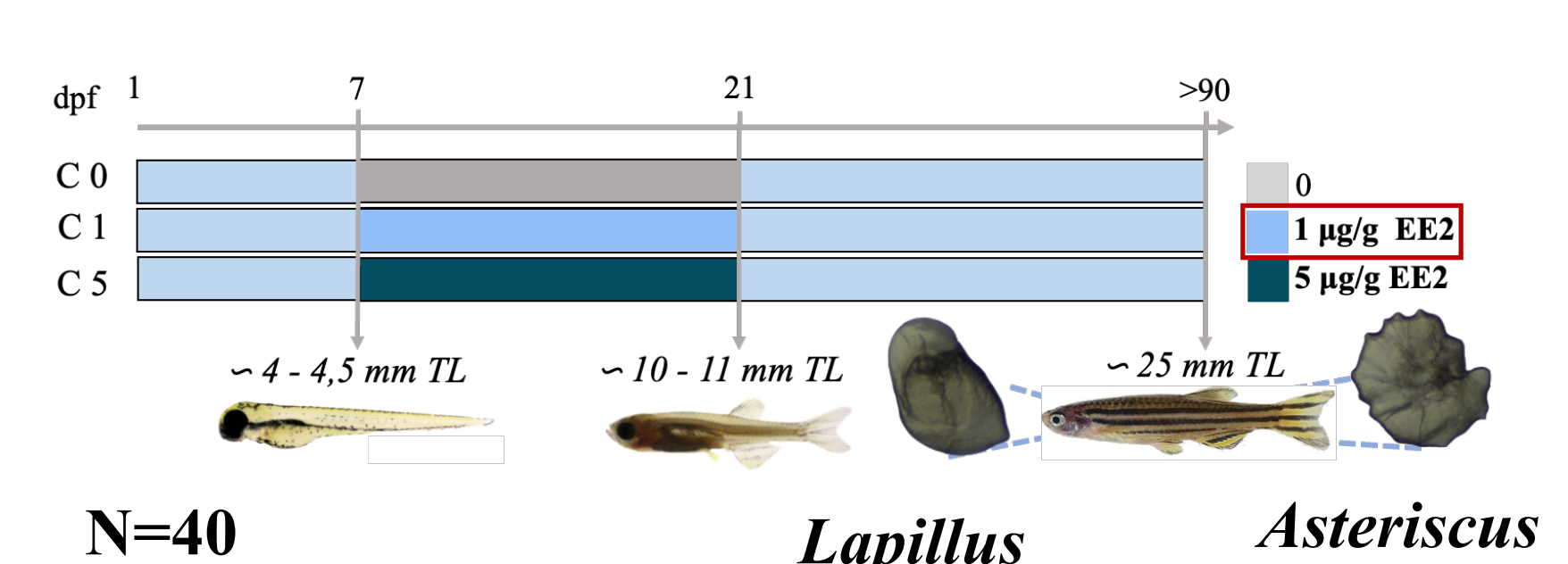
17α-ethinylestradiol (EE2)



Πείραμα έκθεσης στο αυτότροφο στάδιο



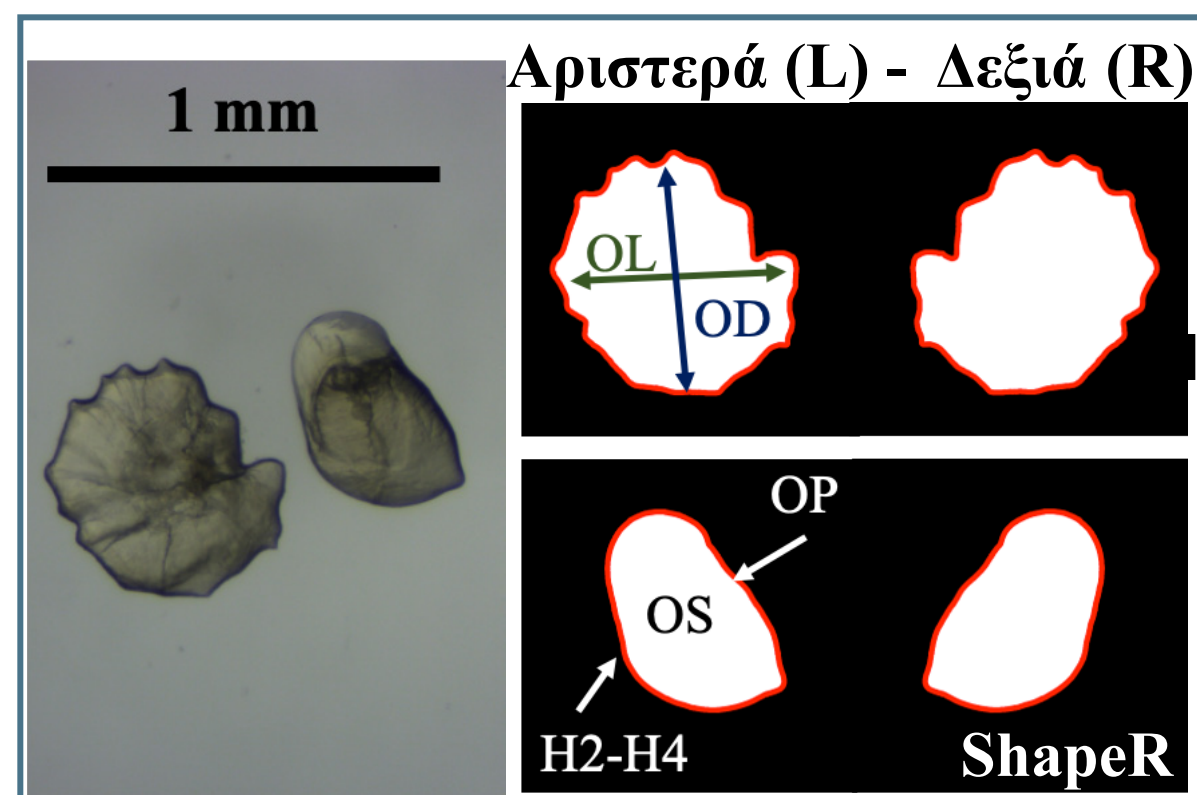
Πείραμα διατροφικής έκθεσης στο νυμφικό στάδιο



Αποτελέσματα

Συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου, οι ωτόλιθοι ενήλικων *D. rerio* που αρχικά είχαν εκτεθεί σε EE2, εμφάνισαν:

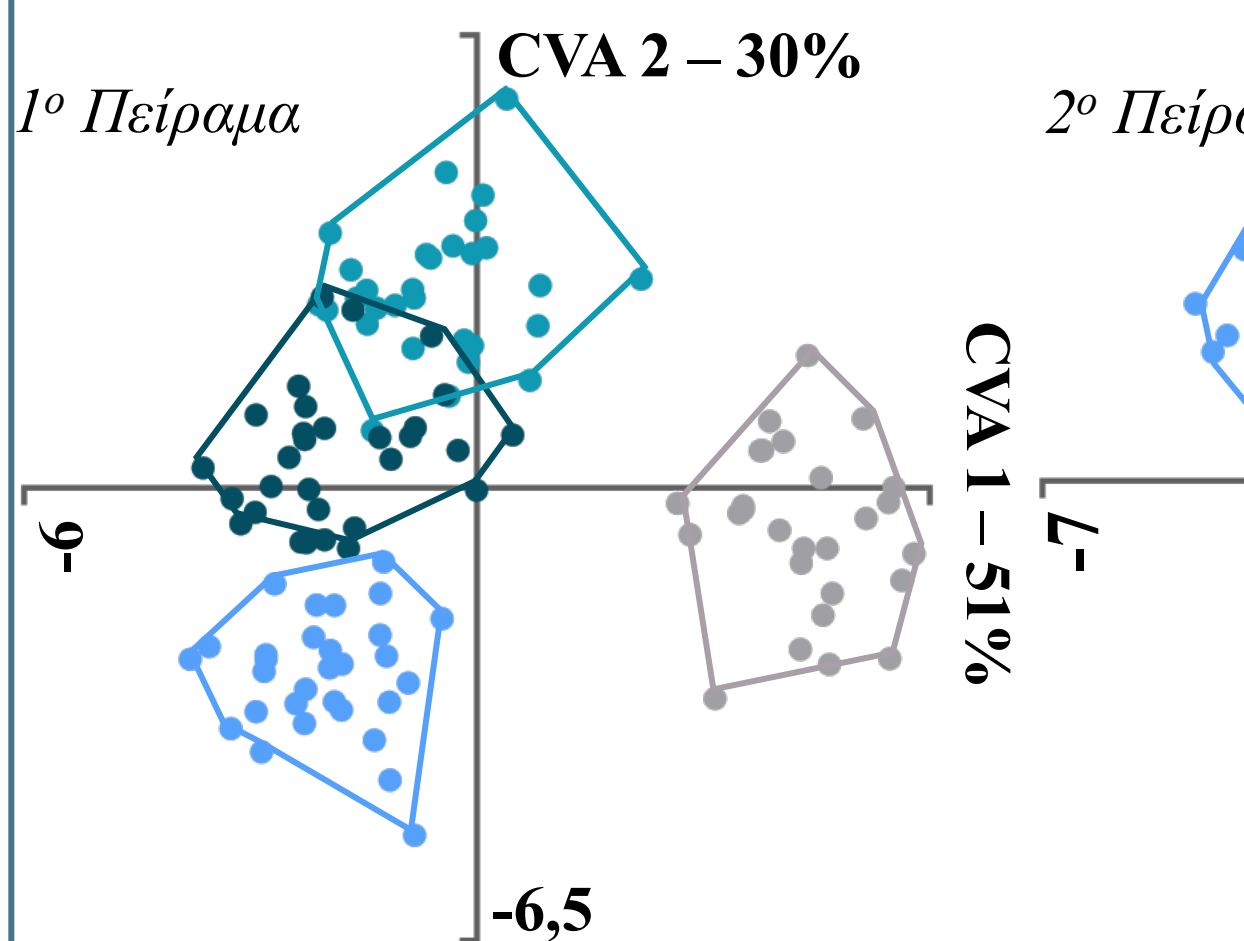
A. Διαφορετικό σχήμα *asteriscii* & *lapillii* ωτόλιθων (δεξιά & αριστερή πλευρά) (Canonical Variate Analysis)



Σφάλμα Μέτρησης

Character	Ast.	Lap.
OS	4%	4%
OL	37%	46%
OD	52%	31%
OP	3%	3%
H2	4%	2%
H3	6%	2%
H4	5%	5%

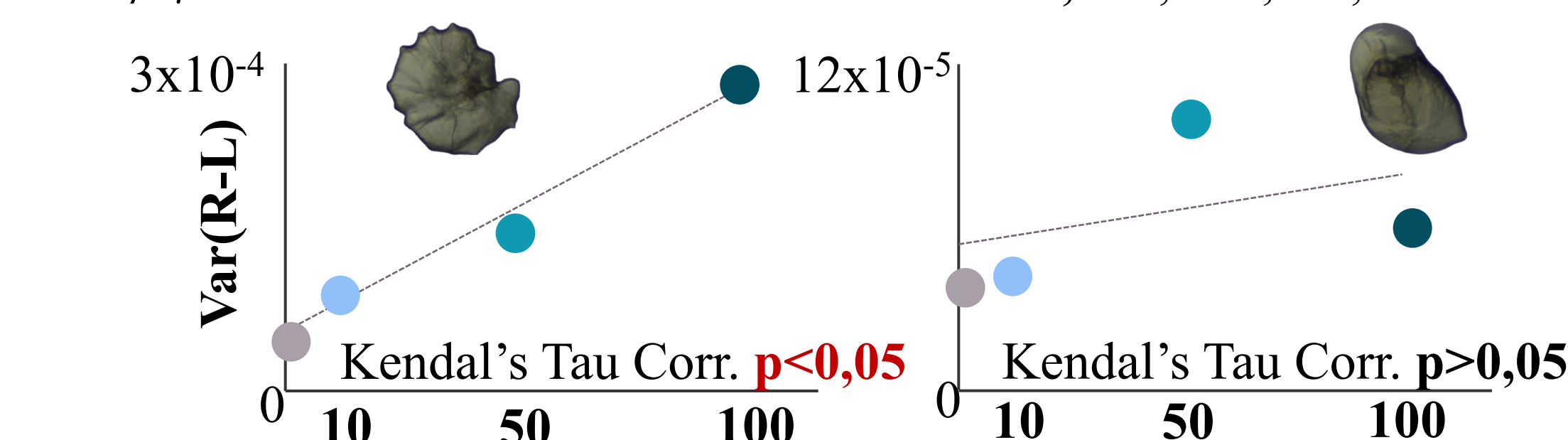
Αριστεροί Asteriscii



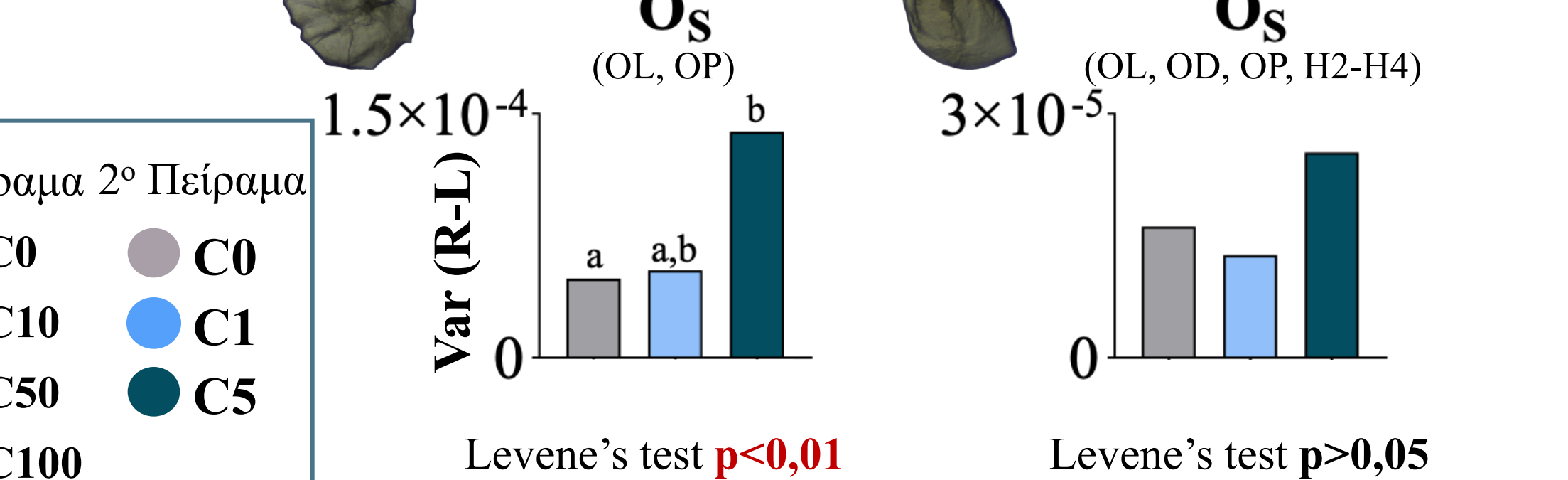
Condition	Squared Mahalanobis Distances
	C0 C10 C50 C100
C0	- *** **
C10	49 - **
C50	41 32 - **
C100	47 24 23 -

B. Αυξημένα επίπεδα αμφίπλευρης ασυμμετρίας μεταξύ δεξιάς και αριστερής πλευράς στους *asteriscii* αλλά όχι στους *lapillii* ωτόλιθους

1ο Πείραμα



2ο Πείραμα



Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, συμφωνούν με την βιβλιογραφία, καθώς επιβεβαιώνεται πως η έκθεση σε EDCs κατά τα νεαρά οντογενετικά στάδια, επηρεάζει την ανάπτυξη των ωτολίθων (Yuan. *et al.*, 2023). Επίσης, όπως και στους Geladakis *et al.*, 2022, οι αλλαγές στα τροχιακά ανάπτυξης των ωτολίθων που προκαλούνται από περιβαλλοντικούς παράγοντες ή EDCs αφήνουν το στίγμα τους στην μορφολογία των ωτολίθων και σε μεταγενέστερα στάδια της ζωής των ιχθύων. Τέλος, παρατηρείται ότι, οι *lapillii* ωτόλιθοι είναι πιο ανθεκτικοί από τους *asteriscii*.

Συμπεράσματα

Η έκθεση σε EE2 (από το νερό ή την τροφή) και στα δύο παράθυρα ανάπτυξης, έχει μακροχρόνιες επιδράσεις στην μορφολογία των ωτολίθων του *D. rerio*.

Αναφορές:

Aris, A. Z., Shamsuddin, A. S., & Praveena, S. M. (2014). Occurrence of 17α-ethinylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: A review. In Environment International (Vol. 69, pp. 104–119).
Geladakis, G., Kourkouta, C., Somarakis, S., & Koumoundouros, G. (2022). Developmental Temperature Shapes the Otolith Morphology of Metamorphosing and Juvenile Gilthead Seabream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). Fishes, 7(2).
Yuan, M., Zeng, C., Lu, H., Yue, Y., Sun, T., Zhou, X., Li, G., Ai, N., & Ge, W. (2023). Genetic and Epigenetic Evidence for Nonestrogenic Disruption of Otolith Development by Bisphenol A in Zebrafish. Environmental Science and Technology, 57(43), 16190–16205.