

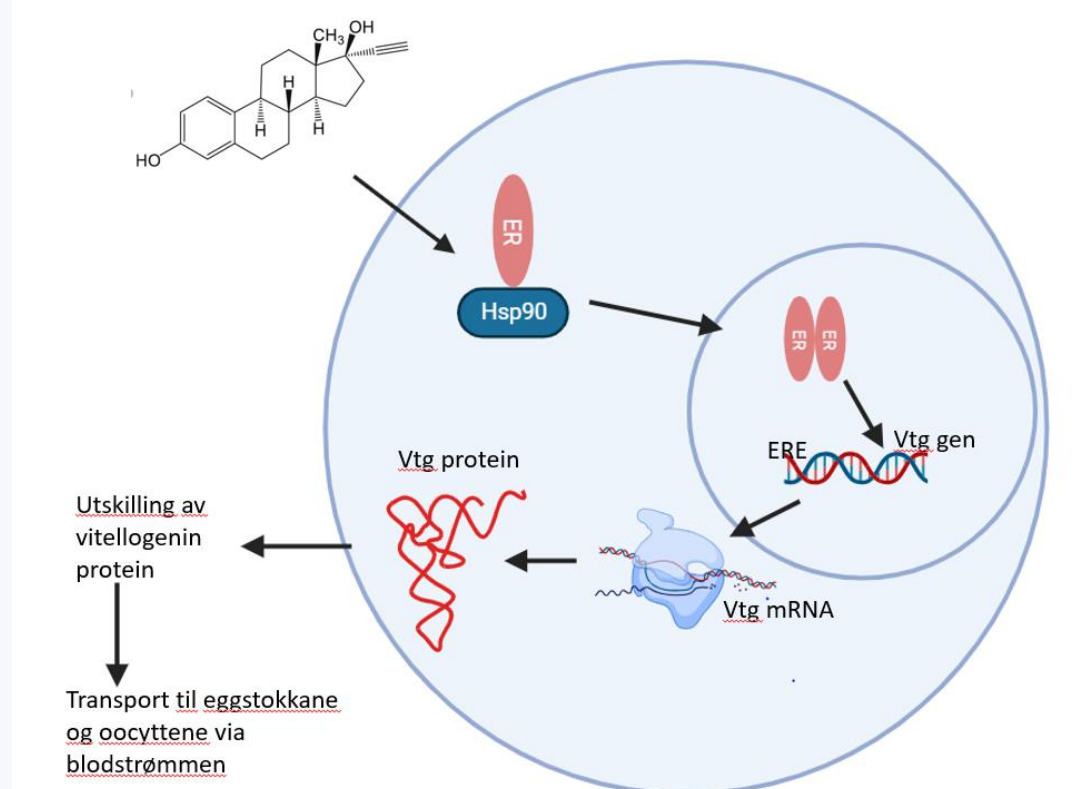
Halefinnen til torsk

en ikke-invasiv metode for å påvise hormonforstyrrende stoffer

Ylva Taule Storås, Fekadu Yadetie, Odd André Karlsen og Anders Goksøyr
Institutt for biovitenskap, Universitetet i Bergen

Bakgrunn

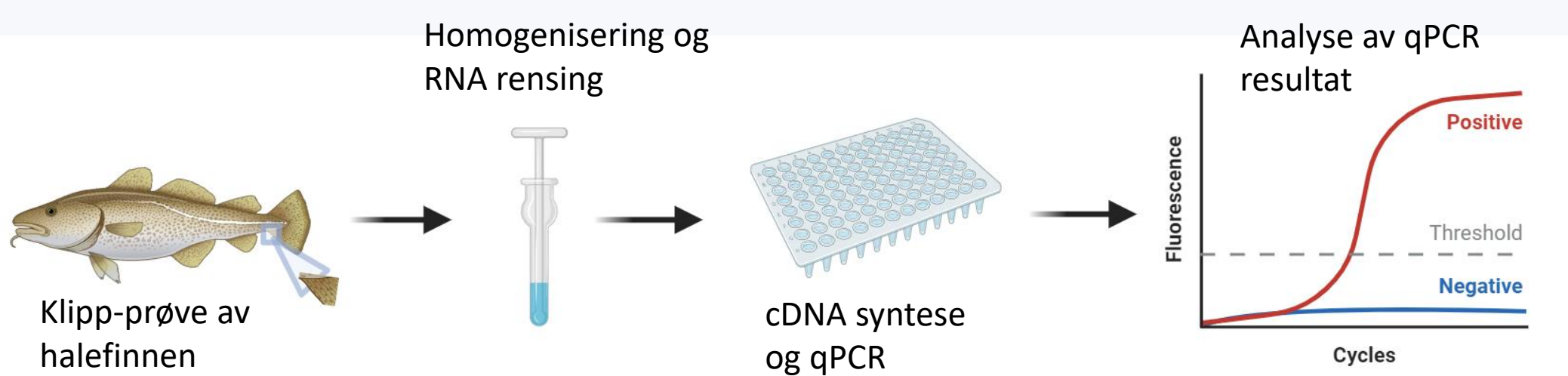
Menneskelig avfall som maling eller medisiner inneholder stoffer som frigjøres til miljøet og kan virke negativt på naturen. Noen av disse **miljøgiftene** er **hormonforstyrrende stoffer**, som vil si at de kan påvirke hormonsystemer uten å være et hormon. For eksempel kan syntetisk fremstilt **østrogen** (etynyløstradiol, EE2), som brukes i p-piller, forstyrre de normale prosessene for **kjønnsmodning** hos fisk (1). For å undersøke om fisk har blitt utsatt for hormonforstyrrende stoffer tar man **idag** prøver av leveren eller plasma for å undersøke tilstedeværelse av biomarkøren **vitellogenin**.



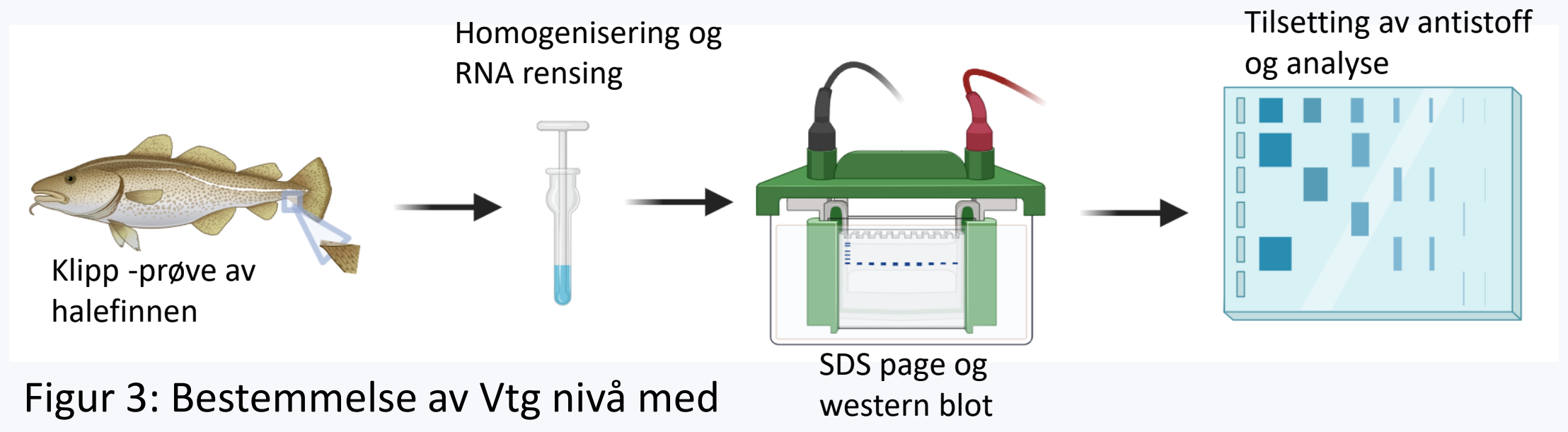
Figur 1: EE2 blir først tatt opp i leveren og binder til østrogenreseptoren, som igjen induserer transkripsjonen og produksjonen av vitellogenin (Vtg). Vtg blir normalt skilt ut i blodstrømmen og transportert til gonadene hos hunnfisk. (1)

Enkelte studier har påvist genuttrykket av biomarkøren i halefinnen til regnbueørret (3). Jeg skal i dette prosjektet se nærmere på om en kan ta en klipp-prøve av halefinnen til torsk, som en **ikke-invasiv** metode for å måle mengden av biomarkører for eksponering mot østrogene stoffer, inkludert plommesekkproteinet vitellogenin (figur 1)

Metode

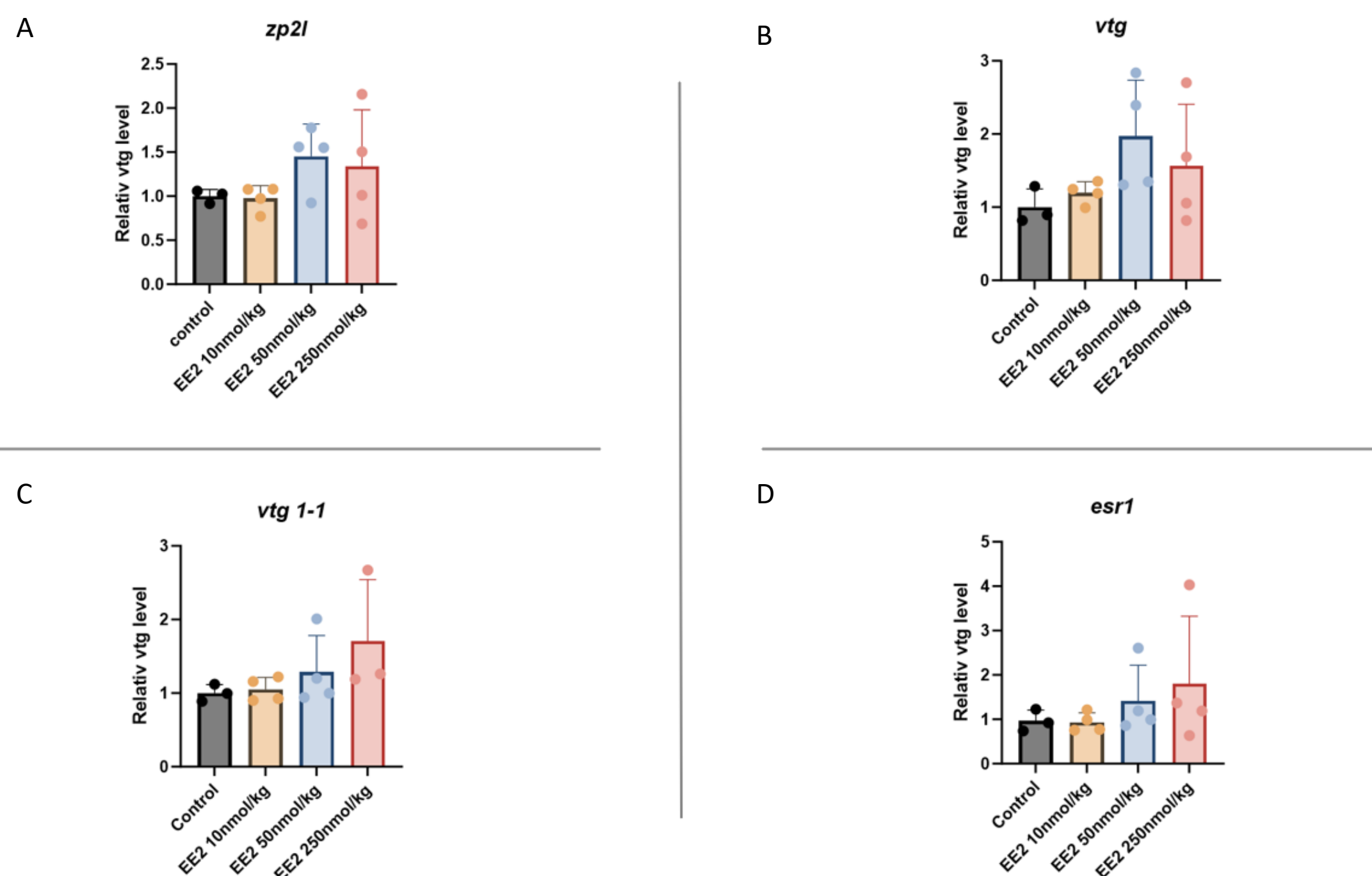


Figur 2: Bestemmelse av Vtg nivå med kvantitativ PCR

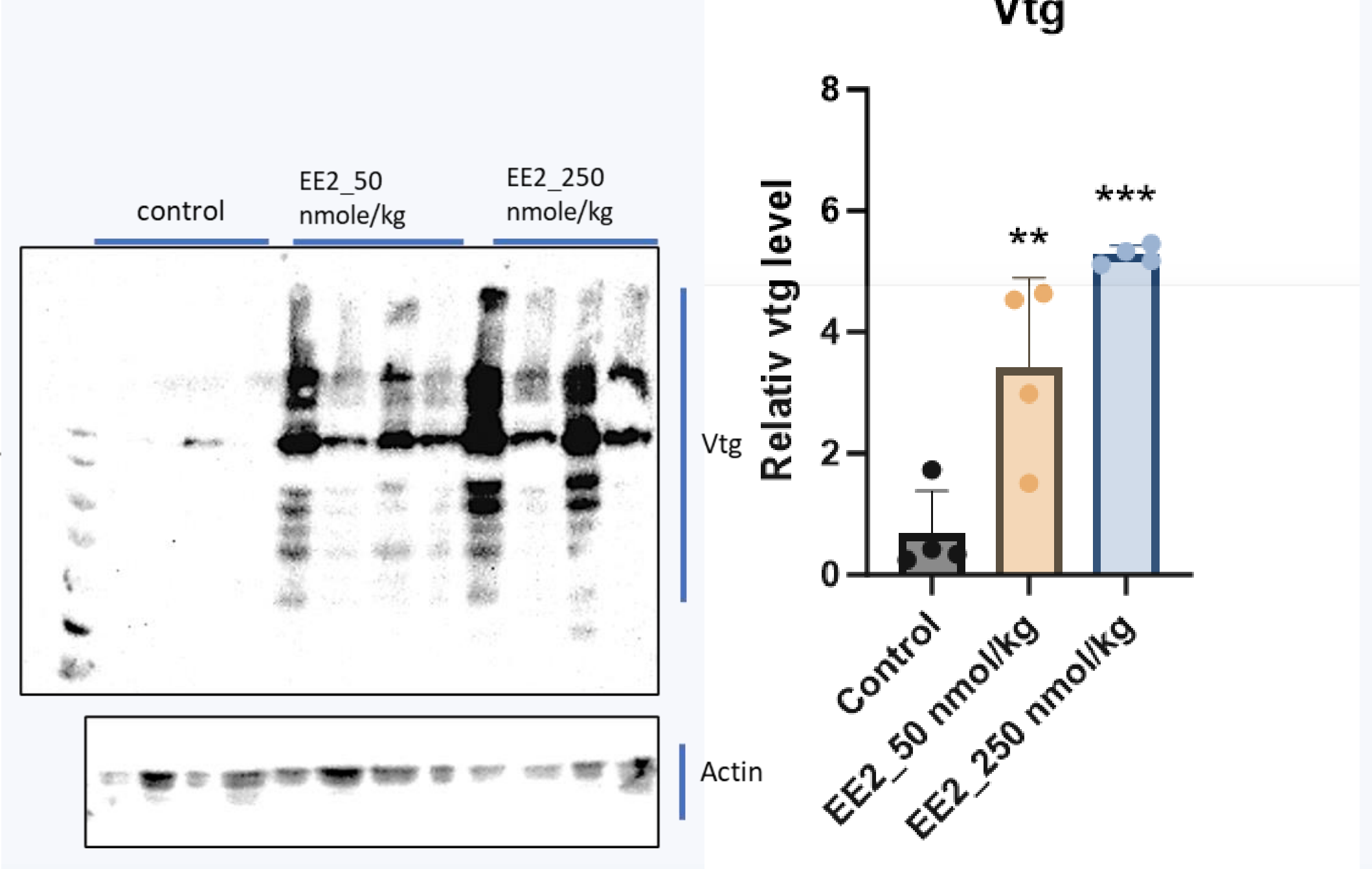


Figur 3: Bestemmelse av Vtg nivå med western blotting

Resultat



Figur 4: Resultat for qPCR-analysen: Ut fra figur A-D kan man se en svak økning av eggsekallsproteinene zp2l (A), vtg (B), vtg 1-1 (C) og østrogenreseptoren esr1 (D) i individer utsatt for økende mengde EE2 i forhold til kontroll. En kan se en trend med økning i transkriptmengder, men ingen statistisk signifikante resultat



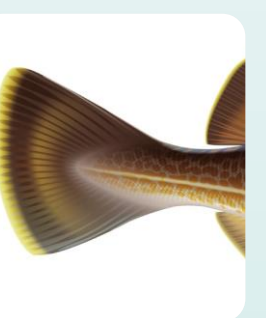
Figur 5: Resultat fra western blot analysen. Denne figuren er brukt til kvantifisering av vtg. Her kan en se fra Actin blottet at det er tilsatt like mye protein i alle brønnene og at det er mer Vtg i individene eksponert for EE2.

Figur 6: Kvantitative analyser av western blotting data. Analysen ble gjort ved å måle intensiteten til 50nmol/kg og 250nmol/kg. Her kan en se signifikante resultat fra begge konsentrasjonene.

Konklusjon

- Resultatene viste ingen signifikant økning i mRNA fra vitellogenin i halefinnen til torsk.
- I forhold til funnene hos regnbueørret kan det være forskjeller mellom arter, men det kan også ha med eksponeringssituasjonen å gjøre (3).
- Proteinet blir fraktet via blodstrømmen og det vil dermed også komme noe til halefinnen, og dette kan være en forklaring på hvorfor en får signifikant økte mengder av Vtg i disse prøvene.
- En kan med denne kunnskapen også vurdere om en blodprøve er mer følsom enn en finneklipp-prøve for påvisning av østrogene biomarkører, men begge metodene vil trolig fungere.

Vi kan bruke halefinnen for å påvise hormonforstyrrende stoff, men...



Referanser:

- Arukwe, A., Goksøyr, A., 2003. Eggshell and egg yolk proteins in fish: hepatic proteins for the next generation: oogenetic, population, and evolutionary implications of endocrine disruption. *Comp Hepatol* 2, 4. <https://doi.org/10.1186/1476-5926-2-4>
- Eide, M., Karlsen, O.A., Kryvi, H., Olsvik, P.A., Goksøyr, A., 2014. Precision-cut liver slices of Atlantic cod (*Gadus morhua*): An in vitro system for studying the effects of environmental contaminants. *Aquatic Toxicology*, 153, 110–115. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.027>
- Veldhoen, N., Stevenson, M.R., Skirrow, R.C., Rieberger, K.J., van Aggelen, G., Meays, C.L., Helbing, C.C., 2013. Minimally invasive transcriptome profiling in salmon: Detection of biological response in rainbow trout caudal fin following exposure to environmental chemical contaminants. *Aquatic Toxicology* 142–143, 239–247. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.08.016>

