

Utjecaj endokrinih modulatora na okoliš

Kerkez, Josip

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:607864>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

UTJECAJ ENDOKRINIH MODULATORA NA OKOLIŠ

Josip Kerkez

Prediplomski studij znanosti o okolišu

Mentor: doc. dr. sc. Anamaria Štambuk

Zagreb, 2016.

SADRŽAJ

UVOD	3
ENDOKRINI MODULATORI	4
UTJECAJ ENDOKRINIH MODULATORA NA BESKRALJEŽNJAKE	6
UTJECAJ ENDOKRINIH MODULATORA NA KRALJEŽNJAKE.....	9
ZAKLJUČAK	13
LITERATURA.....	14
SAŽETAK	16

UVOD

Populacije i vrste ovise o ponašanju koje su evolucijski stekle tijekom niza godina prilagodbi i promjena za svoj opstanak, do te granice da u nekim slučajevima i malene promjene ponašanja mogu uzrokovati velike promjene broja jedinki populacija. Hormoni su veoma važni u razvoju jedinki. Utječu na njihova ponašanja i fizička obilježja.

Endokrini modulatori su prirodni ili antropogeni spojevi koji utječu antagonistički ili agonistički na endokrini sustav organizama. Spojevi koji imaju takva svojstva mogu se pronaći u mnogim vrstama proizvoda poput vrsta plastika, lijekova, protupožarnih sredstva, kozmetike ili pesticida. U ovom radu ću prezentirati neke najviše istražene endokrine modulatore te njihove utjecaje na beskrležnjake i kralježnjake. Većina promjena koje su uočene kod promatranih vrsta ne utječu izravno na opstanak same jedinke nego na sposobnosti razmnožavanja i opstanka populacije preko modificiranja njihovih životnih ciklusa.

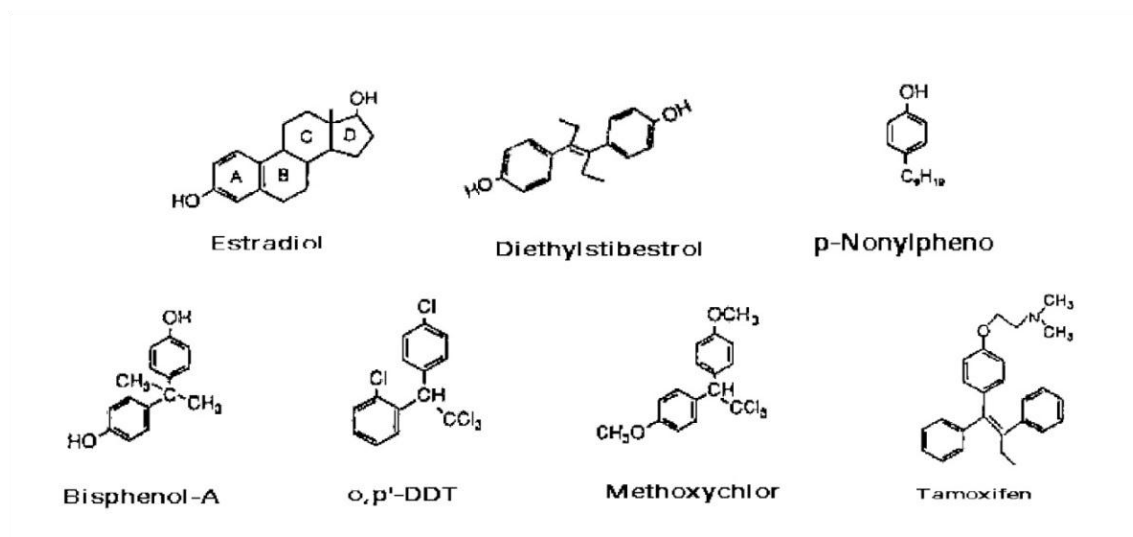
Važno je napomenuti da endokrini modulatori (EM) imaju različite učinke na kralježnjake i beskrležnjake zbog drastično drugačijih endokrinih sustava. No, bez obzira na vrstu koju utječu najštetniji su u samom stadiju razvoja organizama kada i najmanje promjene, teško uočljive na samoj jedinci mogu utjecati na njezine organske sustave kasnije tijekom života. Promjene u organskim sustavima se mogu prenjeti na sljedeće generacije, mijenjajući šanse preživljavanja populacija nepoželjnim mutacijama i prilagodbama.

EM mogu imati značajne posljedice na ekosustave u kojima se nađu zbog svoje tihe prirode izmjenjivanja organizama. Takve štetne promjene često su uočene već kada je prekasno. Proučavanjem potencijalnih EM se ti spojevi mogu lakše identificirati u budućnosti te se njihov rizik može smanjiti ili spriječiti. Glavni predmet većine istraživanja radova na ovu temu je utjecaj EM na ljude, stoga ćemo u ovom radu dati pregled njihovih utjecaja na ostale organizme u prirodi.

ENDOKRINI MODULATORI

Endokrini modulatori su egzogeni kemijski spojevi koji mijenjaju strukturu ili funkciju endokrinog sustava i uzrokuju promjene na razinama jedinki, njihovog potomstva i njihovim populacijama (*Robert Bigsby i sur. 1999.*). Veliki skup kemijskih spojeva može imati endokrini utjecaj stoga je lista spojeva koji su endokrini modulatori opširna i ne istražena u potpunosti. Svima je zajednička karakteristika sposobnost poremećivanja hormonske homeostaze organizama. Najčešće ometani biosintetski putevi za koje znamo su od estrogena, androgena ili hormona štitnjače.

Estrogeni i androgeni su građeni od 4 ugljična prstena što je tipična struktura za steroide potekle od kolesterola. Inhibiraju se preko sistema inhibicije steroida zbog svoje kemijske građe. Hormoni štitnjače se, s druge strane, ne vežu izravno na receptore nego se sprječava peroksidaza štitnjače, unos joda ili aktivacija enzima. Estrogen može i biti uzrok mnogih karcinoma stoga kemikalije koje ga oponašaju ili potiču njegovu proizvodnju predstavljaju rizik za homeostazu organizama.



[Slika 1. Kemijske strukturne formule estradiola i određenih ksenoestrogena, preuzeto iz: *Endocrine Disruptors: Can Biological Effects and Environmental Risks Be Predicted?*, Raphael J. Withorsch, 2002.]

Endokrini modulatori mogu postići štetna djelovanja na jedan od tri načina: Oponašanje hormona, koje uzrokuje pretjeranu stimulaciju; blokiranje receptora hormona, koje sprječava daljnju sintezu ili blokiranje djelovanja samih hormona. Rezultati toga su teže uočljivi na pojedinim jedinkama koje modificiraju već su bolje vidljivi komparativno na razini populacije po abnormalnostima muških ili ženskih spolnih organa, smanjenoj plodnosti mužjaka i ženki, itd.

EM mogu biti štetni već u veoma malim količinama te je zabrinjavajuća i mogućnost sinergizma između malih koncentracija EM s raznim ksenobioticima koji njihov učinak mogu povećati i do 1600x (*Arnold i sur, 1996.*). Zbog svoje građe sporo se raspadaju u okolišu, a prestanak njihove proizvodnje nije potpuno rješenje situacije, jer je moguće širenje u druge krajeve svijeta preko zraka ili vode koje EM na kraju talože u sedimentima.

UTJECAJ ENDOKRINIH MODULATORA NA BESKRALJEŽNJAKE

Beskralježnjaci su skupina kod koje utjecaj EM nije dobro istražen zbog njihovih slabije razvijenih endokrinih sustava. Estrogeni su prisutni, ali njihova funkcija nije potpuno istražena. Od svih vrsta beskralježnjaka kao testni organizmi se najčešće koriste različite vrste mekušaca. Najznačajniji razlog za istraživanje endokrinih sustava beskralježnjaka je razvoj insekticida i pesticida sa endokrinim djelovanjem, ali zbog njihove prirode zadržavanja u okolišu sa sobom nose veliki rizik za ostale neciljane organizme.

Poremećaj hormonske homeostaze kod beskralježnjaka najčešće uzrokuju promjene spolova jedinki i rast sekundarnih spolnih organa suprotnog spola (imposeks). Takve promjene su nepovratne i čine veliki rizik opstanku populacija koje zahvaćaju. Opažanje poremećaja može biti otežano zbog različite osjetljivosti kroz životne dobi ili zbog samih testnih vrsta. Pleiotropni učinak određenih hormona također odmaže cijeloj situaciji.

Sve posljedice EM koje su spomenute u ovom poglavlju, dokazane su na istraživanjima koja su zasnovana na sličnom principu. Testne vrste su bile izložene određenim količinama testnih kemikalija u akvarijima od 60 L vode sa filtrima na period od 24 ili 48 sata, na dnu akvarija se nalazio sediment od 90% kvarca i 10% treseta. Akvariji su bili postavljeni na sobnoj temperature (22°C), a dan i noć su ravnopravno bili raspoređeni svakih 12 sati. (Jörg Oehlmann i sur, 2000.)

Česti rezultat je bio smanjen fekunditet kod mnogih vrsta, što su jedinke bile više izložene EM, pokazujući da je za populaciju više važno vrijeme izloženosti toksikantu nego sama koncentracija (*Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis, Thomas M. Crisp et al. 1997*). Produljena izloženost je također uzrokovala smanjeni broj receptora i slabiju osjetljivost na hormone.

Tributalkositar (TBT) u minimalnim koncentracijama ima negativna djelovanja na različite vrste mekušaca, s najčešćim simptomima poput sterilizacije ženki ili stvaranja imposeksa (*Ulrike Schulte-Oehlmann i sur, 2000.*), gdje djelovi ženskog spolnog sustava postaju deformirani do te mjere da su više nalik muškom spolu.

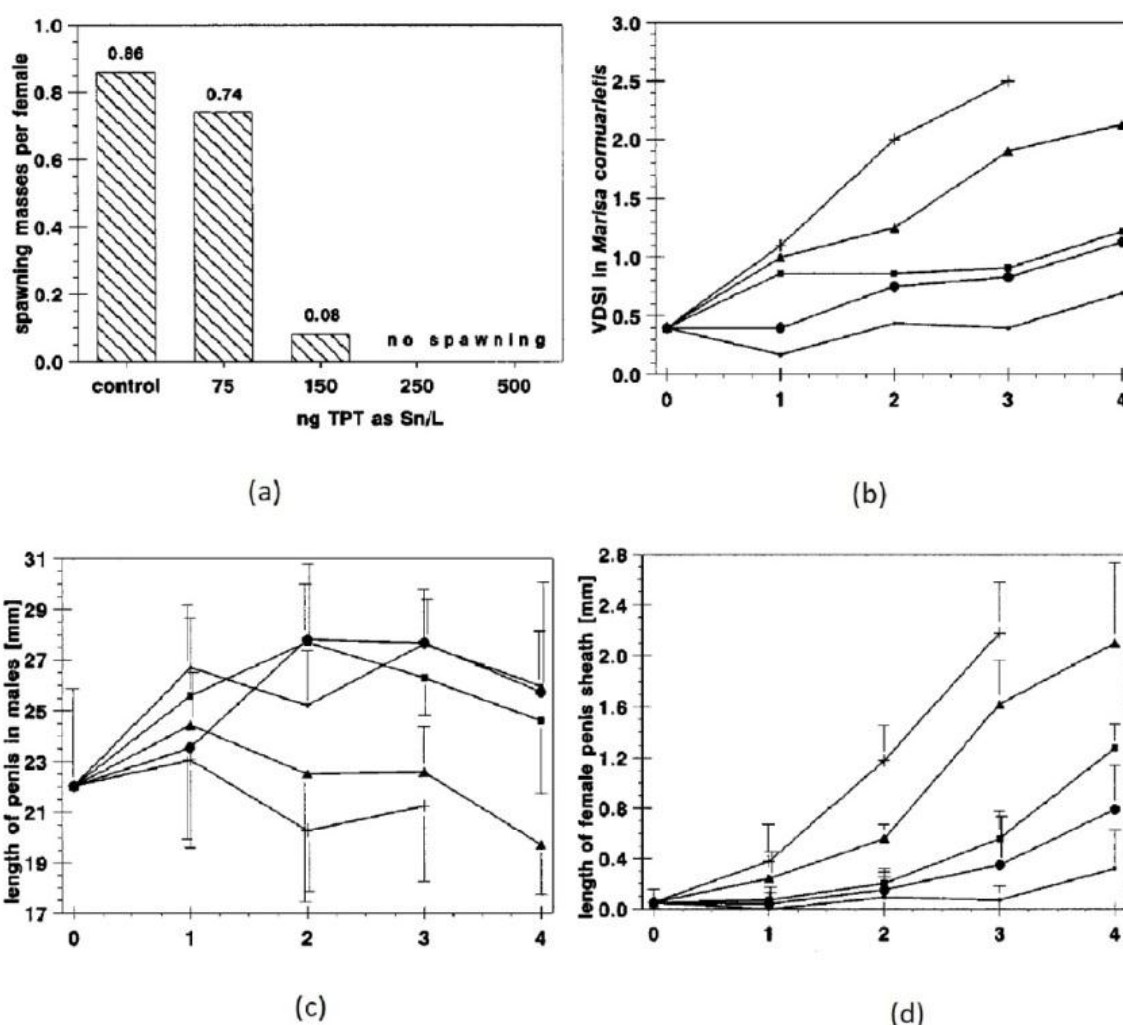
Bisfenol-A (BPA) se koristi u proizvodnji različite plastike, komponenta epoksidnih smola ili u proizvodnji guma i termopapira u okolišu ima estrogena djelovanja. Industrijski je masovno korišten, a u okoliš ulazi otpadnim vodama gdje je njegova biorazgradivost vrlo niska, a koncentracije već od 2-5 µg /L su dovoljne da uzrokuju promjene na endokrinim sustavima organizama.

Bilo kakva izloženost jednom od ovih EM je kod testne vrste *Marisa cornuarietis* uzrokovala povećanje pojave sterilnih jaja, deformaciju ženskog spolnog sustava, povećanu smrtnost ženki, (najvjerojatnije zbog pojave superženki koje imaju dvostruke ženske spolne organe, *Jörg Oehlmann i sur, 2000*). Pored superženki zabilježene su i ruptуре jajovoda zbog blokiranja vaginalnog otvora novonastalim sjemenovodnim tkivom, čiji su rast potaknuli EM.

Učinak EM je bio potpuno drugačiji kod vrste *Nucella lapillus* zbog morfoloških razlika između položaja i izgleda jajovoda. Kod te vrste nije došlo do sterilizacije niti povećanog mortaliteta. Njihove spolne žlijezde su bile povećane što je lagano uočljivi indikator djelovanja ksenobiotika. Kod mužjaka ove vrste je značajno smanjena količina spermija u sjemenicima i njihova proizvodnja. Smanjena je dužina prostate i penisa jedinki što je rezultirao rjeđe uočenim razmnožavanjem. Ovakve posljedice su zabilježene već pri izloženosti BPA-a koncentracijama od 2 µg/kg tjelesne težine.

Trifenilfosfat (TFP) je također pokazao endokrina djelovanja na beskralježnjacima. Koristi se kao fungicid ili kao komponenta u sredstvu protiv obraštaja brodova. Poluraspad mu traje 21-36 dana. Tom svojstvu pridonosi njegova otpornost na hidrolizu i podvodnu fotolizu. Taloži se u sediment ili dolazi u vodeni okoliš ispiranjem iz tla.

Testne koncentracije TPT-a u eksperimentima su bile 75/150/250/500 ng/L za *Marisa cornuarietis* te 5/10/100 ng/L za *Nucella lapillus*. Rezultati su pojavu imposeksa, promjenu dužine muških i ženskih spolnih organa. Zabilježen je i smanjen fekunditet kao i sterilizacija kod oba spola.



[Graf 1. Prikaz rezultata utjecaja trifenilfosfata (TFP) na vrstu *Marisa cornuarietis*; (a) Fekunditet, (b) indeks jedinki sa imposeksom kroz mjesec istraživanja (c, d) promjena dužine muških i ženskih spolnih organa kroz mjesec istraživanja, preuzeto iz: *Effects of Endocrine Disruptors on Prosobranch Snails (Mollusca: Gastropoda) in the Laboratory. Part II: Triphenyltin as a Xeno-Androgen*, Ulrike Schulte-Oehlmann i sur, 2000.]

UTJECAJ ENDOKRINIH MODULATORA NA KRALJEŽNJAKE

Kralježnjaci zbog svojeg razvijenijeg endokrinog sustava imaju puno više mogućnosti da neki ksenobiotik ili prirodni spoj djeluje na njih kao endokrini modulator. Izloženost EM je najčešća na područjima gdje je povećano zagađenje, poput otpadnih voda kod postrojenja za pročišćavanje kanalizacije (*Anders Goksøyr, 2006.*) ili prilikom konzumiranja plijena koji u sebi već sadrži EM. Kod kralježnjaka izrazito vrijedi da se promjene uzrokovane EM lakše primjećuju na razini populacije nego kod samih jedinki.

Zbog uporabe mnogih pesticida na nametnicima kralježnjaci koji se njima hrane su uvijek neizravno izloženi EM i prenose ih dalje niz hranidbeni lanac do vrsta viših potrošača sa manjim populacijama, kojima najmanje promjene hormonske homeostaze mogu veoma poremetiti cijelu populaciju.

Istraživanjima “in vitro” možemo istražiti utjecaje pojedinih ksenobiotika na organizme, ali u prirodi će uvijek postojati mnogo više varijabli nego što ih se može replicirati u laboratoriju stoga svi sljedeći primjeri ne prikazuju točne odnose kakvi bi mogli biti u prirodi.

Ribe su veoma pogodne za endokrina istraživanja zbog velikog izbora vrsta s kratkim generacijskim vremenom, koje omogućava bolji uvid u posljedice EM na populacije. Kraći generacijski ciklus znači lakše izvođenje testova, stoga je zebrica *Danio rerio* idealan testni organizam. Preko vitelogenina se pratio utjecaj estrogena na endokrini sustav. Estrogen je kroz životni ciklus jedinki promijenio omjer spolova populacije i uzrokovao pojavu interseksa. 10 ng/L je bilo dovoljno da potpuno inhibira razmnožavanje i mrijest riba. Izložene drugim ksenobiotcima (poput BPA) zebrice su pokazale smanjeni fekunditet zajedno s manjim brojem uspješnih oplodnja.

Pimephales promelas je također testna vrsta pogodna za istraživanje utjecaja EM. Na njima je vršeno istraživanje učinka 17- β trenbolona, produkt trenbolon acetata – steroida koji se koristi kao promotor rasta stoke. U okoliš dospijeva izmetom koji se zatim vodom ispire u tlo ili vodena tijela. Ribama je već pri koncentracijama od 0,027 $\mu\text{g/L}$ i više zabilježen smanjeni fekunditet. (D. H. Miller, Gerald T. Ankley, 2004.)

Same jedinke nisu imale značajno promijenjen životni vijek te jedine promjene koje su bile uočene su na razini populacije. Njihov životni ciklus razmnožavanja je dulji od zebrića stoga je teže opaziti učinak EM jer pri svakom od stadija razvoja 17 β -trenbolon drugačije utječe na jedinku ovisno o dobi.

[Tablica 1. i 2. Fekunditet i stopa preživljavanja jedinka *Pimephales promelas* kroz razvoj, preuzeto iz: Modeling impacts on populations: fathead minnow (*Pimephales promelas*) exposure to the endocrine disruptor 17 β -trenbolone as a case study, D. H. Miller, Gerald T. Ankley, 2004.]

17 β -trenbolon koncentracija [$\mu\text{g/L}$]	Smanjenje fekunditeta	Starost [god.]	Stopa preživljavanja (godišnja)
0.0015	0	0	1
0.027	50.1	1	0.001
0.266	100	2	0.00039
4.35	100	3	0.0001521
40.6	100	4	0

Gmazovi koji žive u vodenim staništima također mogu dospjeti pod utjecaj EM, poput aligatora u jezeru Apopka, Florida (*Thomas M. Crisp i sur. 1998*). Tamo su otpadne vode u okoliš ispuštale mješavinu DDT-a i ciklodiena. Posljedice su bile feminizirani mužjaci i pojavljivanje superženki kod nekih jedinka. Takve promjene su značajno utjecale na uspješnost izlijevanja potomaka i održavanje populacije u tom području.

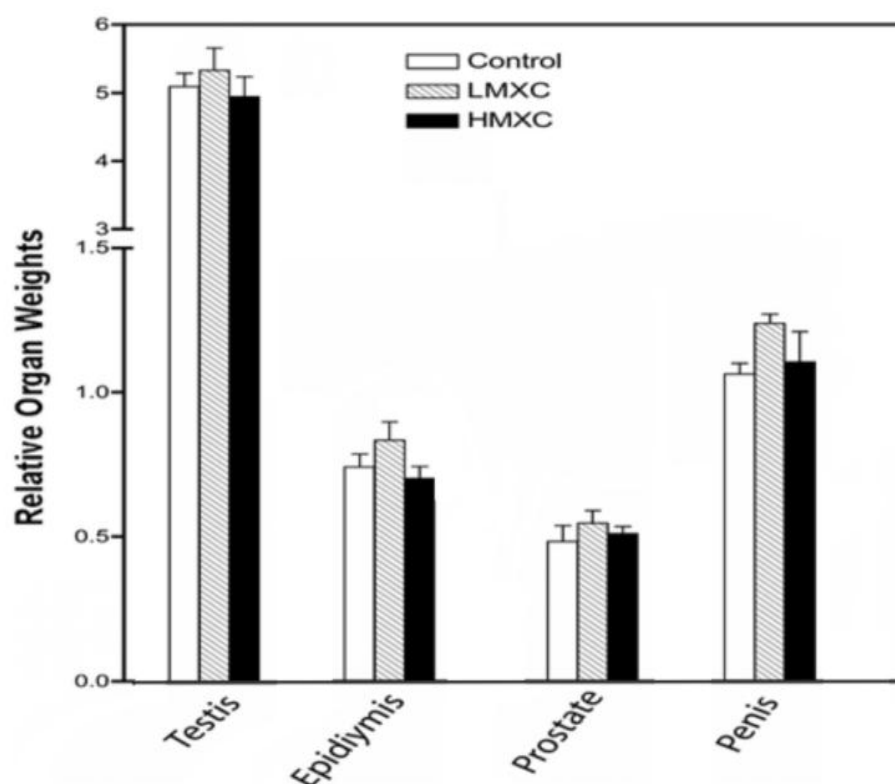
Pored hladnokrvnih kralježnjaka ni toplokrvni ne prolaze bez posljedica pod utjecajem EM. Najizloženiji u prirodi su morski sisavci na koje mogu utjecati otpadne vode sa modulatorima poput DDT, PCB ili DDE. Osim direktnog izlaganja toksikantima iz okoliša sisavci zbog svojeg višeg položaja u hranidbenom lancu imaju i povećan indirektan rizik unosa EM preko hrane.

Dobri dupin, američka vidra ili obični tuljan su svi izloženi EM preko riba onečišćenim mješavinom PCB-a i drugih spojeva koji cirkuliraju vodenim ekosustavima gdje se njihov plijen nalazi.

Istraživanja štetnosti na sisavcima se primarno vrše radi reference njihovog mogućeg utjecaja na ljude. Istraživanja su se pokazala korisna u približnom ili točnom određivanju utjecaja kod ljudi. Pri tom se koriste laboratorijski štakori i miševi preko koji osim za ljude, mogu dati točne podatke za utjecaj EM na mnogo više vrsta malih sisavaca u okolišu.

Jedna od tih vrsta je laboratorijski soj Sprague-Dawley, vrste norveških štakora (*Rattus norvegicus*) na kojima je istražen utjecaj metoksiklora (MXC). MXC je kao organoklorirani pesticid korišten umjesto DDT-a koji je dokazano toksičan. Nažalost ni MXC nije u potpunosti siguran jer su vršena istraživanja koja pokazuju da ima antiandrogena i potiče stvaranje estrogena. Tijekom razvoja jedinki može uzrokovati nepovratne promjene koje utječu na sposobnosti razmnožavanja u spolnoj zrelosti.

Trudnim štakoricama su davali 50-150 mg/kg tjel. tež./danu MXC radi promatranja učinka na razvoj embrija. Proučavanjem njihovih gonada pred kraj razvojnog stadija pokazano je da je došlo do smanjena površine gonada i manje razvijenih spolnih sustava. (John G. Vandenberg, 2016.)



[Graf 2. utjecaj metoksiklora na razvoj i veličinu gonada *Rattus norevgicus*. LMXC pokazuje rezultate za 50 mg/kg/dan, HMXC rezultate 150 mg/kg/dan pri postnatalnoj starosti od 20 dana; preuzeto iz: *Animal Models and Studies of in Utero Endocrine Disruptor Effects*, John G. Vandenberg, 2016.]

Osim štakora osjetljivost na EM u maternici je potvrđena i kod miševa gdje je osjetljivost na jedinke unutar maternice velika. Ženke se posebno odnose na to zbog estrogena koji im je potreban da se njihov spol u potpunosti razvije. Najmanji stres na maternicu majke može uzrokovati poremećaje u razvoju jedinke nakon poroda i povećanu podložnost ksenobioticima. (*Animal models and studies of in utero endocrine disrupting effects, Vandenberg; Models of Viral-Induced Carcinogenesis and Oncolytic Viruses, V.57 Issue 1 2016*). Kod mužjaka endokrini modulatori su povećali prostate jedinkama što je dovelo do promjena u ponašanju.

ZAKLJUČAK

Svi utjecaji endokrinih modulatora na primjerima okupljenim u ovom radu pokazuju kako EM djeluju na suptilne načine koji nakon dovoljnog vremena uzrokuju velike promjene u populacijama koje mogu drastično utjecati na cijele ekosustave. Zbog njihove sposobnosti zadržavanja u okolišu, najbolji način za prevenciju takvih rizika je sakupljanje više informacija o ksenobioticima koji mogu djelovati kao endokrini modulatori u nadi da se u budućnosti takve tvari brže detektiraju i uspiju ukloniti iz okoliša prije nego što njihova šteta postane nepovratna.

Svi životinjski organizmi u prirodi su najranjiviji u razvoju, od oplodnje do spolno zrele jedinke. Ovisno o tipu razmnožavanja neke vrste su više ugrožene od ostalih.

Potrebno je više istraživanja s različitim vrstama ksenobiotika na što većem broju životinjskih vrsta s različitim karakteristikama da bi se otkrili mogući rizici endokrinih modulatora radi očuvanja prirode. Očuvanjem prirode se automatski i smanjuje rizik koji endokrini modulatori mogu imati i na ljudsku vrstu koja je također podložna sporom i neprimjetnom djelovanju promjene hormonske homeostaze i same vrste.

LITERATURA

Endocrine disruptors in the marine environment: mechanisms of toxicity and their influence on preproductive processes in fish, Anders Goksøyr, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 69:175–184, 2006

Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review, Wissem Mnif et al, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2011, 8

Environmental Endocrine Disruption: An Effects Assessment and Analysis, Thomas M. Cris et al. *Environmental Health Perspectives* Vol 106, Supplement 1

Evaluating the Effects of Endocrine Disruptors on Endocrine Function during Development, Robert Bigsby et al., *Environmental Health Perspectives* Vol 107, Supplement 4

Modeling impacts on populations: fathead minnow (*Pimephales promelas*) exposure to the endocrine disruptor 17 β -trenbolone as a case study, Miller, Ankley, University of Nebraska – Lincoln DigitalCommons@University of Nebraska – Lincoln

Large Effects from Small Exposures. I. Mechanisms for Endocrine-Disrupting Chemicals with Estrogenic Activity, Wade V. Welshons et al., *Environmental Health Perspectives*, VOLUME 111, NUMBER 8

Animal Models and Studies of in Utero Endocrine Disruptor Effects, John G. Vandenbergh, Department of Zoology, North Carolina State University, Raleigh, North Carolina

Selecting the Appropriate Rodent Diet for Endocrine Disruptor Research and Testing Studies, Julius E. Thigpen et al., National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS), Volume 45, Number 4

Effects of Endocrine Disruptors on Prosobranch Snails (Mollusca: Gastropoda) in the Laboratory.

Part I: Bisphenol A and Octylphenol as Xeno-Estrogens,

Part II: Triphenyltin as a Xeno-Androgen, JÖRG OEHLMANN et al. *Ecotoxicology*, 9, 383-397, Kluwer Academic Publishers

Endocrine Disruptors: Can Biological Effects and Environmental Risks Be Predicted?,

Raphael J. Witorsch, *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 36, 118–130,

Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates

and invertebrates: report from the European IDEA project, H. Segner, et al., *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54, 302–314

Effect of Transient Embryonic In Vivo Exposure to the Endocrine Disruptor Methoxychlor on Embryonic and Postnatal Testis Development, Andrea S. Cupp et al., *TOC Volume 24*, Issue 5, 736–745

Endocrine disruptors in sewage treatment plants, receiving river waters, and sediments:

Integration of chemical analysis and biological effects on feral carp, Mira Petrović et al. *TOC Volume 21*, Issue 10, 2146–2156

Long-Term Effects of Environmental Endocrine Disruptors on Reproductive Physiology and Behavior, Heather B. Patusaul and Heather B. Adewale, *Journal List, Front Behav Neurosci* v.3

SAŽETAK

Endokrini modulatori (EM) su prirodni ili antropogeni spojevi sa svojstvom opstajanja u prirodi, a utječu antagonistički ili agonistički na endokrini sustav organizama.

Mijenjau strukturu ili funkciju endokrinog sustava preko poremećenja hormonske homeostaze te uzrokuju promjene na razinama jedinka, njihovog potomstva i njihovim populacijama. Njihov utjecaj na beskrležnjake nije toliko dobro istražen kao kod kralježnjaka, ali pokazuje potencijal za razvoj endokrinih pesticida u slučaju otkrivanja ekološki prihvatljivog EM. Kralježnjaci imaju veći rizik izloženosti EM zbog svojeg položaja u hranidbenom lancu i teže detekcije promjena uzrokovanim njima. Od stadija razvoja do odraslih jedinki njihov utjecaj može prikriveno prelaziti sa generacije na generaciju dok ne uzrokuje nepovratnu promjenu, odgovornu za smrt populacije. Istraživanje i detekcija tvari koje su sposobne uzrokovati to je najbolja metoda za rješavanje tog problema.

SUMMARY

Endocrine disruptors are compounds that persist in nature, they can be anthropogenic or xenobiotic. They can have an agonistic or antagonistic effect on the endocrine system of vertebrates and invertebrates by altering the structure or function of the endocrine system. With the disruption of hormonal homeostasis they can have a surprising impact on individual animals, their populations in a habitat or even their entire species. Effects of endocrine disruptors on invertebrates are not as well researched as on other vertebrates, with most research focusing on the development of eco-friendly pesticides. Vertebrates can get exposed to endocrine disruptors in any aspect of their life and their changes due to that exposure are harder to detect. Those changes get passed onto future generations without detection, which can endanger entire populations. Research that focuses on finding and diagnosing the effects of endocrine disruptors is the best way of dealing with the issue.