UPPSALA
UNIVERSITET

Hur påverkar utsläpp av det syntetiska hormonet 17α-etinylöstradiol(EE_2) reproduktionen hos fiskar?

Alexander Valén Fransson

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, vårterminen 2016
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Hur påverkar utsläpp av det syntetiska hormonet 17α-etinylöstradiol (EE_2) reproduktionen hos fiskar?

Alexander Valén Fransson

Självständigt arbete i biologi 2016

Sammandrag

Idag är det vanligt att endokrinstörande ämnen släpps ut i vattendrag via reningsverk. Ett av ämnena som reningsverken inte fullt ut klarar av att rena bort är 17α-etinylöstradiol (EE_2). EE_2 är ett syntetiskt östrogen som ofta förekommer som en av de aktiva komponenterna i p-piller och når vattendrag genom att det utsöndras via urinen. En del av dessa utsläpp går sedan genom reningsverk. Fiskar som lever nedströms om reningsverk utsätts därmed för ett konstant flöde av EE_2 och de senaste två decennierna har det rapporterats om ett flertal fall där dessa fiskar har bytt kön. Syftet med denna litteraturstudie har därför varit att undersöka hur utsläpp av EE_2 påverkar reproduktionen hos fiskar. Laborativa studier där fiskar har exponerats för EE_2 har bland annat visat att zebrafiskhanar (*Danio rerio*) tillbakabildar testiklar till förmån för äggstockar och exponerade hanar av medakafiskar (*Oryzias latipes*) genomgår ett könsbyte från genetiska hanar till honor. Vid fältstudier fokuserar forskare främst på att studera det som sker naturligt med fiskarna i ekosystemen och därmed är det svårt att påvisa effekter från just EE_2. Dock genom att analysera koncentrationer av vitellogenin i blodplasman hos fiskar kan forskare fastställa att fiskarna har utsatts för någon typ av syntetiserade östrogener som då exempelvis EE_2. Även dessa studier har påvisat att bland annat mörthanar (*Rutilus rutilus*) har uppvisat tecken på intersexualism, det vill säga att de har både hanliga och honliga gonadvävnader. Vidare kraschade en population av amerikanska elritsor (*Pimephales promelas*) två år efter fiskarna hade börjat exponerats för EE_2. Med detta i åtanke borde fortsatt forskning fokusera på att försöka kartlägga hur EE_2 samverkar med andra endokrinstörande ämnen i naturen och hur de påverkar fiskpopulationer. Detta för att i framtiden minska de negativa effekterna från utsläpp som fiskar idag utsätts för.

Inledning

Bekämpningsmedel, läkemedel och andra typer av kemikalier är alla exempel på ämnen som kan ha endokrinstörande effekter på organismer. Det är inte ovanligt att dessa ämnen släpps ut i vattendrag via avloppsvatten eller genom avrinning från jordbruksverksamheter. Ämnena ackumuleras sedan ofta både i sediment och biota, som exempelvis fisk (Andersson *et al.* 1990, Hu *et al.* 2005). Fiskar är känsliga för exponering av dessa ämnen då de kan ansamlas i fisken via olika absorptionsvägar (Weber & Goerke 2003, Kwong *et al.* 2008) och i och med att fiskar lever i vatten är de ständigt exponerade för de ämnen som släpps ut (Fent *et al.* 2006). Fiskarna kan ta upp läkemedel som består av icke-polära beståndsdelar genom enkel diffusion (Corcoran *et al.* 2010). Lipofila ämnen tas vanligast upp via gälarna (Bjerselius *et al.* 2001) men det förekommer även att det sker via födointag eller genom att modern överför metaboliter och kemikalier till äggen (Corcoran *et al.* 2010).

Endokrinstörande ämnen kan vara både naturligt förekommande eller tillverkade av människan och de fungerar genom att antingen imitera eller blockera naturliga hormonfunktioner inom organismer (Goodhead & Tyler 2009). Xenoöstrogener är ett samlingsnamn för syntetiserade östrogener som försöker efterlikna funktionen hos naturligt förekommande östrogen (Baatrup & Henriksen 2015). Tillsammans med syntetiskt progestin (Liu *et al.* 2012) används ofta xenoöstrogener i preventivmedel för att kontrollera menstruation och graviditet (Baatrup & Henriksen 2015). Ett av xenoöstrogenerna som har

studerats i stor utsträckning med avseende på påverkningar av reproduktion hos fiskar är 17α-etinylöstradiol (EE_2). EE_2 förekommer som en av de aktiva komponenterna i p-piller och att just EE_2 har undersökts i sådan stor utsträckning är på grund av att ämnet är vanligt förekommande i avloppsvatten och vattendrag i anslutning till reningsverk (Desbrow *et al.* 1998, Belfroid *et al.* 1999, Cargouët *et al.* 2004). Vidare har det visat sig att EE_2 genom östrogenreceptormedierade vägar har en effekt på det endokrina systemet som reglerar reproduktionen hos fiskar (Metcalfe *et al.* 2001).

Reningstekniken hos många konventionella reningsverk har en begränsad förmåga att ta bort EE_2 från avloppsvattnet (Mills *et al.* 2015). Detta tillsammans med att studier har visat att EE_2 påverkar olika aspekter av fiskars reproduktionsbiologi även vid låga koncentrationer (Segner *et al.* 2003, Fenske *et al.* 2005) gör att hela populationer av fiskar kan komma att påverkas. Syftet med denna litteraturstudie är att undersöka hur utsläpp av EE_2 påverkar fiskar och då främst med fokus på deras reproduktion.

Ackumulering av EE_2 hos fiskar

17β−östradiol (E_2) är det mest potenta naturligt förekommande östrogenet i både människor och fiskar (James 2011, Ketha *et al.* 2015) och är viktigt vid bildandet och mognaden av äggstockarna. Bildandet av E_2 sker via enzymer som exempelvis aromataser (Fenske & Segner 2004). Produktionen och utsöndringen av östrogen kan påverkas genom att manipulera eller inhibera aromataser, vilket i slutänden ger synliga effekter på organismen. Exempelvis har en studie av Fenske *et al.* (2005) visat att genom att påverka aromataserna under könsutvecklingen har kvoten av hanliga och honliga gonader kunnat ändras.

E_2 är det östrogen som ofta används som referens i förhållande till xenoöstrogener. EE_2 är en vanlig aktiv komponent i p-piller och andra preventivmedel (Desbrow *et al.* 1998, Belfroid *et al.* 1999, Cargouët *et al.* 2004) och det når vattendrag genom att steroiderna utsöndras via urin och avföring i dess konjugerade former sulfater och glukuronider. Att konjugera EE_2 är kroppens sätt att inaktivera ämnet och göra det hydrofilt (Aris *et al.* 2014). Reningsverkens oförmåga att ta bort EE_2 från avloppsvattnet (Mills *et al.* 2015) medför att bakterien *Escherichia coli* som återfinns i avloppsvatten kan dekonjugera EE_2 till de mer aktiva fria steroiderna igen (Aris *et al.* 2014).

EE_2 är en potent xenoöstrogen som har en bindningsförmåga till östrogenreceptorer som är upp till två till tio gånger högre jämfört med det naturligt förekommande E_2 (Thorpe *et al.* 2003, Nash *et al.* 2004). EE_2 är även en av de mest beständiga xenoöstrogenerna och har en halveringstid på ungefär 14 till 17 dagar i vatten, vilket är längre än E_2 (Shore *et al.* 1993, Jürgens *et al.* 2002). EE_2 är utbrett i ytvatten och avloppsvatten och har återfunnits i koncentrationer mellan 0,2 till 13 ng L^{-1} (Desbrow *et al.* 1998, Wise *et al.* 2011).

När fiskar exponeras för EE_2 kan det tas upp genom olika absorbtionsvägar (Weber & Goerke 2003, Kwong *et al.* 2008) som exempelvis via gälarna, födointaget (Bjerselius *et al.* 2001) eller genom enkel diffusion (Corcoran *et al.* 2010). Det har visat sig att åldern hos fiskarna är av avgörande karaktär för hur allvarliga effekterna blir av exponeringen. Generellt är organismer känsliga för exponering under kritiska utvecklingsstadier så som larv-, embryoniska och juvenila stadier (Corcoran *et al.* 2010) och under könsdifferentieringen (Holbech *et al.* 2006). Särskilt under embryogenesen, då embryot bildas och utvecklas, befinner sig fiskar ofta i ett kritiskt stadie då de är som mest känsliga för förändringar i hormonhalter (Chow & Cheng 2003). Hormonella störningar i något av de kritiska

utvecklingsstadierna kan ge allvarliga och bestående effekter på fiskarna och ofta påverkar det processer som har en anknytning till reproduktionen (Santos *et al.* 2014, Baatrup & Henriksen 2015).

EE_2 påverkar fiskar

En studie av Purdom *et al.* (1994) är ofta citerad som en av de första artiklarna att påvisa att utsläpp från reningsverk innehållandes xenoöstrogener har fysiologiska effekter på fiskar som lever i anslutning till dessa (Caldwell *et al.* 2008). Upphovet till studien var att de kunde notera en stor andel hermafrodit fisk som levde i anslutning till reningsverken (Purdom *et al.* 1994). Fram till idag har det genomförts många studier för att se hur exponering för EE_2 och andra xenoöstrogener påverkar fiskar och deras reproduktion.

Lägsta koncentrationen av EE_2 som påverkar fiskar

Segner *et al.* (2003) undersökte vid vilka koncentrationer av EE_2 en effekt kunde noteras på exponerade zebrafiskar (*Danio rerio*). Effekterna av exponeringen undersöktes genom att mäta tillväxt, överlevnad, fekunditet (antal lagda ägg per hona), befruktningsframgång, tid till första gången fisken leker och halten vitellogenin (VTG) i plasman. Vidare undersökte forskarna även om parningsbeteendet förändrades och genom histologiska studier kunde de se om någon förändring av gonaderna hade inträffat. Forskarna undersökte om effekterna från exponeringen av EE_2 skiljde sig åt från en exponering under en hel livscykel jämfört med exponering under olika utvecklingsstadier. Därför delades undersökningarna upp i olika tidsintervaller där fiskarna exponerades för EE_2 från befruktning till antingen fertil ålder (hela livscykeln), slutet av den embryonala perioden, under fasen av odifferentierade gonader, under perioden med protogyniska äggstockar, slutförandet av könsdifferentieringen, eller enbart under perioden då könsdifferentieringen äger rum. Vid slutet av exponeringarna överfördes fiskarna till vatten utan EE_2 och föddes upp under kontrollbetingelser till vuxna stadier. Därefter mättes ovan nämnda reproduktiva parametrar under en treveckorsperiod.

Bland zebrafiskarna som exponerades för EE_2 under hela livscykeln visar resultaten från studien av Segner *et al.* (2003) att 1,67 ng L^{-1} var den lägsta koncentration som gav upphov till effekter i form av en reducerad juvenil tillväxt, förhöjda nivåer av VTG, fördröjning av tiden till första gången fisken leker, ett förändrat parningsbeteende, reducerad fekunditet samt en reducerad befruktningsframgång. Vidare kunde de genom histologiska studier av gonaderna konstatera att den lägsta koncentrationen EE_2 som gav upphov till förändringar var 3 ng L^{-1}. Exponering under perioder av könsdifferentiering resulterade i förändringar av fortplantningsförmågan hos vuxna fiskar. Effekter med en reducerad befruktningsframgång, fördröjd tid till första gången fisken leker, förändrat parningsbeteende, reducerad fekunditet samt förhöjda nivåer av VTG var identiska med de som observerades hos fiskar som exponerats under hela livscykeln. Det som skiljde resultaten åt var att det krävdes en högre koncentration, 3 ng L^{-1}, EE_2 innan några effekter kunde noteras.

I motsatts till Segner *et* al. (2003) visade Papoulias *et al.* (2000) att medakafiskar (*Oryzias latipes*) bland annat genomgår ett fenotypiskt könsbyte från genetiska hanar till honor när ägg injiceras med 0,5 till 2,5 ng EE_2 per befruktat ägg. Andra studier där fiskar har exponerats för miljömässigt relevanta koncentrationer, 4 till 6 ng L^{-1}, EE_2 har bland annat visat att honor hos amerikanska elritsor (*Pimephales promelas*) har fått en förändrad oogenes genom att oocyterna mognar senare (Kidd *et al.* 2007) och hanar hos sandstubb (*Pomatoschistus minutus*) har fått ett förändrat parningsbeteende (Saaristo *et al.* 2009).

Korttidsexponering kontra långtidsexponering
Även om fiskar lever i vitt skilda miljöer så utsätts de vanligtvis för en konstant exponering av endokrinstörande ämnen. Visserligen kan regn eller andra förändringar i väderförhållanden påverka koncentrationerna av de utsläppta ämnena som påverkar fiskarna men oftast är utsläppen över tid mer eller mindre konstanta. Även om det förekommer är enskilda och korta exponeringar ovanligt förekommande ute i naturen. Därför är det vanligt att forskare utsätter fiskarna för en kronisk exponering av endokrinstörande ämnen. Vanligtvis vid laborativa studier utsätts fiskarna endera för en korttidsexponering, det vill säga under en kort tidsperiod men under ett kritiskt utvecklingsstadium, eller en långtidsexponering, som sker under en längre tidsperiod alternativt under hela fiskens livstid (Fent *et al.* 2006). Korttidsexponeringar har både praktiska och ekonomiska fördelar men från flera håll föreslås det att mer utrymme borde ges åt långtidsexponering då dessa studier i högre grad återspeglar de förhållanden som råder i naturen. Resultaten från dessa studier kan sedan förhoppningsvis generera passande modeller som kan användas i fältstudier (Fent *et al.* 2006, Scholz & Klüever 2009).

Hormonstörande ämnen påverkar flera fysiologiska processer hos fiskar

Vid studier av hormonstörande ämnen undersöks ofta genen VTG, ett protein som hos ovipariska vertebrater återfinns i blodplasman. VTG syntetiseras i levern och utsöndras sedan i blodet för att kunna tas upp av växande oocyter. VTG fungerar som en prekursor för ämnen som är viktiga vid oocyters utveckling (Tyler *et al.* 1996). I och med att gentranskriptionen av VTG är östrogenberoende och att både honor och hanar bär på genen gör VTG till en lämplig biomarkör att studera (Tyler *et al.* 1999).

En annan biomarkör som vanligen används är förändringar av könet (Holbech *et al.* 2006). Det är även vanligt att se till förändringar i den sexuella differentieringen eller utvecklingen. Hos embryon är det vanligt att morfologiska abnormiteter, graden av mortalitet eller förändringar i hjärtslag mäts eller observeras (Santos *et al.* 2014). Vid studier av juvenila eller vuxna fiskar är det vanligt att effekter på könsorgan studeras genom histologiska studier av ägg- och spermakoncentrationer. Även förändringar av gonader och genuttryck analyseras (Fenske *et al.* 2005).

Det är inte bara fiskars fysiologi och utveckling som kan påverkas vid exponering för syntetiska hormoner som EE_2 utan även deras beteende och då främst deras parningsbeteende (Fenske & Segner 2004). Det är därför viktigt att belysa hur fiskars beteende påverkas av syntetiska hormoner eftersom ett förändrat beteende kan få långtgående konsekvenser för hela populationer (Baatrup & Henriksen 2015). Vid undersökningarna noteras och kvantifieras artspecifika beteenden. Exempel på detta är tid som spenderas i romläggningsytan, hur många utfall hanar gör mot varandra i konkurrens om parningstillfällen eller boplatser samt tiden som honor och hanar spenderar i en romläggningsyta (Saaristo *et al.* 2009, Baatrup & Henriksen 2015).

Gonadernas utveckling och funktion
Gonaderna är de endokrina körtlar i kroppen hos fiskar och andra vertebrater som reglerar utsöndringen av könshormoner och som producerar könsceller. Hypotalamus styr utsöndringen av hormoner från gonaderna genom att signalera till hypofysen om utsöndring av gonadotropinutsläppande hormoner vilka i sin tur triggar utsöndring av gonadotropiner. Det är gonadotropiner som sedan stimulerar syntetisering och utsöndring av könshormoner från äggstockar och testiklar. Att hjärnan, hypofysen och gonaderna samverkar på detta sätt

brukar benämnas som hjärna-hypofys-gonad-axeln (HHG-axeln). Samverkan styrs genom feedbackmekanismer mellan de utsöndrade hormonerna och dessa mekanismer fungerar i stort sett likadant hos fiskar som hos människor (Scholz & Klüever 2009).

För att påverka kvinnors ägglossning och fertilitet används ofta preventivmedel som utnyttjar HHG-axeln (Scholz & Klüever 2009). Genom ett intag av preventivmedel som innehåller syntetiska hormoner innebär det att denna konstanta närvaro av de reglerande hormonerna kommer leda till att gonadotropinutsöndringen inhiberas. Detta medför att äggen inte kommer mogna och därmed försvinner möjligheten till befruktning (Klaasen & Watkins 2010). När endokrinstörande ämnen släpps ut i naturen kan de på liknande sätt modifiera eller påverka HHG-axeln (Shore *et al.* 1993). Viktigt att notera är att signaleringen från HHG-axeln hos vissa fiskarter kan triggas eller inhiberas av miljöfaktorer som exempelvis ljus eller temperatur och inte bara av utsläpp av endokrinstörande ämnen (Luzio *et al.* 2015).

Utvecklingen av gonader och könstypiska organ hos fiskar beror ofta på flera olika faktorer. Till skillnad från däggdjur, där det vanligtvis är frånvaron eller närvaron av Y-kromosomen som bestämmer avkommans kön, finns det fiskarter som har en helt annan typ av utveckling. För även om fiskar kan ha en liknande könsbestämning med hjälp av kromosomer förekommer det att miljöfaktorer som exempelvis föda, temperatur och endokrinstörande ämnen påverkar könsbestämningen (Luzio *et al.* 2015). Arter vars könsbestämning påverkas av miljöfaktorer kan därmed vara särskilt känsliga för miljöförändringar vilket kan avspeglas i populationens könsfördelning (von Hofsten & Olsson 2005). Att könsbestämningen mellan olika fiskarter är mer diversifierad än hos däggdjur (Scholz & Klüever 2009) kan vara en bidragande orsak till att könsbestämningen hos fiskar är relativt outforskad (von Hofsten & Olsson 2005).

Exponering för EE_2 under olika livsstadier

I en laborativ studie av Fenske *et al.* (2005) undersökte de hur exponering av EE_2 under en viss del av livscykeln jämfört med en hel livscykel påverkade zebrafiskars (*Danio rerio*) utveckling och reproduktion. De undersökte även om effekterna från EE_2 var reversibla eller inte. Zebrafisken är en vanlig modellorganism som används vid laborativa studier rörande endokrinstörande ämnen. Detta eftersom det går att stimulera fisken till att para sig året runt i laborativ miljö (Fent *et al.* 2006) och den lägger transparenta ägg som gör det lätt att studera strukturella förändringar i ett tidigt skede. Vid studier om hur den embryonala utvecklingen påverkas av endokrinstörande ämnen är den även lämplig då anlagen för gonader uppkommer tidigt (Santos *et al.* 2014). Det har tidigare varit allmänt vedertaget att zebrafisken genomgår en juvenil fas av hermafroditism (Holbech *et al.* 2006) men nyare forskning visar att alla zebrafiskar först utvecklar ovarier men att vissa individer sedan genomgår en omvandling som i slutändan ger upphov till testiklar (Liew & Orban 2013).

Studien utfördes genom att utsätta fiskarna för 3 ng EE_2 L^{-1}, en miljömässigt relevant nivå (Segner *et al.* 2003), från två timmar efter det att äggen fertiliserats fram till 42 eller 118 dagar efter fertilisering. 42 dagar efter fertilisering representerade i studien tiden då gonaderna hade utvecklats och 118 dagar efter fertilisering representerade tiden då zebrafiskarna ansågs ha blivit könsmogna. För att se om effekterna EE_2 var reversibla eller inte hölls fiskarna därefter i vatten utan EE_2 fram till dag 176 efter fertilisering (Fenske *et al.* 2005).

Resultaten visade att honorna som exponerats för EE_2 i 42 dagar hade förhöjda halter VTG i

plasman. Ingen förändring i könskvoten eller reproduktionsförmågan kunde noteras. Hos individer som hade exponerats för EE_2 i 118 dagar kunde det noteras att samtliga individer uppvisade förhöjda halter av VTG i plasman samt att alla individerna uppvisade feminiserade gonader som därför förhindrade möjligheterna till reproduktion då ingen reproduktion kunde noteras. Hos de långtidsexponerade individerna kunde forskarna notera två typer av äggstockar, omogna äggstockar med oocyter i en primär tillväxtfas eller mogna äggstockar med oocyter i alla olika mognadsstadium. Fiskar med omogna äggstockar hade VTG-nivåer jämförbara med kontrollhanar, medan fiskar med mogna äggstockar hade VTG-nivåer liknande kontrollhonor (Fenske *et al.* 2005).

Resultaten från studien visade också att effekterna från långtidsexponeringen delvis var reversibla. Detta eftersom 26 % av individerna som tidigare hade påvisats ha feminiserade gonader nu uppvisade fullt utvecklade testiklar efter de hade vistats i vatten fritt från EE_2 i 58 dagar. Därmed visar resultaten på att en del individer uppvisade exempel på intersexualism, det vill säga att de hade både hanliga och honliga gonadvävnader. Återbildandet av testiklarna påverkade dock inte reproduktionsmöjligheterna eftersom ingen ökad andel befruktade ägg kunde noteras (Fenske *et al.* 2005).

En annan modellorganism som används vid laborativa studier är medakafisken (*Oryzias latipes*). Eftersom medakafisken har en yttre befruktning, en kort generationstid och är lätt att hålla i laboratoriemiljöer till låga kostnader gör det den lämplig för laborativa studier. Liksom zebrafisken går det att stimulera medakafisken till lek året runt i laborativ miljö. Den genetiska könsbestämningen hos medakafisken uppvisas redan fem till sju dagar efter fertilisering och utvecklingen av könscellerna är väl karaktäriserade (Bhandari *et al.* 2015).

Papoulias *et al.* (2000) undersökte hur könsdifferentieringen och utvecklingen av könsorgan påverkades hos just medakafiskar som utsattes för en engångsinjektion av 0,5 till 2,5 ng EE_2 per ägg. Genom att studera gonadvävnaderna hos fiskarna visade resultaten att det räckte med en injektion i detta känsliga livsstadium för att orsaka ett fenotypiskt könsbyte från genetiska hanar till honor. I tillägg till detta uppvisade de exponerade fiskarna en reducerad tillväxt samt att exponerade honor uppvisade en högre andel atretiska folliklar, det vill säga icke frigjorda folliklar, i jämförelse med kontroller. I motsatts till vad Fenske *et al.* (2005) kom fram till kunde Papoulias *et al.* (2000) vid undersökningar av gonaderna inte upptäcka några individer som uppvisade tecken på intersexualism.

I en annan laborativ studie undersökte Bhandari *et al.* (2015) om exponering för EE_2 under embryoutvecklingen hos medakafiskar (*Oryzias latipes*) medförde några abnormiteter hos fiskarna i senare livsstadier eller om fiskarna uppvisade några abnormiteter mellan generationer. Den första generationen (F0) av fiskar exponerades för 0,05 µg EE_2 L^{-1} under den embryonala utvecklingen. Fiskarna i generation F0 och F1 uppvisade inga tydliga fenotypiska skillnader jämfört med kontroller. Dock hade F2-generationen en reducerad fertilitetsgrad och hos F3-generationen hade embryona en reducerad överlevnadsgrad.

Beteendestudier

Saaristo *et al.* (2009) undersökte hur beteenden kopplade till reproduktion påverkades hos fisken sandstubb (*Pomatoschistus minutus*) när den exponerades för EE_2. I studien observerades hur hanarnas förmåga att konkurrera om boplatser och honor kom att påverkas. Detta gjordes genom att hanarna exponerades för 4 ng EE_2 L^{-1} i 7 till 24 dagar. Först lät forskarna exponerade hanar tävla om en boplats mot oexponerade hanar av liknande storlek. Resultatet visade på att de exponerade hanarna inte kunde förvärva eller försvara en boplats

mot oexponerade hanar. I en annan del av studien undersökte och jämförde de parningsbeteenden mellan exponerade och oexponerade hanar. Resultaten visade att exponerade hanar ägnade en signifikant kortare tid till ett aktivt uppvaktande och försök till att leda honorna till boplatsen jämfört med oexponerade hanar. Detta resulterade i att honorna hellre valde att para sig med oexponerade hanar jämfört med de exponerade.

I en likande studie utförd av Majewski *et al.* (2002) undersöktes det om förmågan att etablera och försvara ett lekterritorium hos hanar av fisken knölskallelöja (*Pimephales promelas*) påverkades om de exponerades för antingen 2 eller 8 ng EE_2 L^{-1} i 27 dagar. Därefter placerades en kontrollhane, som inte hade exponerats för EE_2, med en hane som antingen hade exponerats för den högre eller lägre dosen EE_2 i en behållare med optimerade lekförhållanden för att tävla om en boplats. Som kontroll placerades hanar som hade utsatts för samma behandling i behållaren för att se hur de betedde sig. Hanarnas beteenden kvantifierades sedan från videoinspelningar. Resultaten visade att exponering för EE_2 försämrade hanarnas förmåga att konkurrera om och försvara boplatser jämfört med oexponerade individer. Ingen signifikant skillnad kunde ses när hanar från samma behandlingsgrupp placerades tillsammans. Undersökningen visade också att den totala aggressiviteten var högre mellan en exponerad hane och en oexponerad jämfört mellan två hanar som inte hade utsatts för någon exponering.

Fältstudier

Kidd *et al.* (2007) undersökte i en sjuårig fältstudie hur amerikanska elritsor (*Pimephales promelas*) i en testsjö påverkades när fiskarna exponerades för 5 till 6 ng EE_2 L^{-1}. Den kroniska exponeringen ledde till feminisering av hanar genom en förhöjd produktion av VTG. Vissa av hanar uppvisade tecken på intersexualism. Honorna påverkades genom att de fick en förändrad oogenes. Två år efter att utsläppen av EE_2 påbörjades i sjön kunde det noteras att populationen av amerikanska elritsor mer eller mindre kollapsade. Detta berodde till största delen på en förlust av ettåriga individer. Även om några yngre individer fångades varje år fortsatte reproduktionsmisslyckandet fram till två år efter det att utsläppen av EE_2 hade avslutats. Trots att populationer av amerikanska elritsor vanligtvis fluktuerar på grund av varierande rekrytering observerades inte den tydliga förlusten av ettåriga individer i någon av kontrollsjöarna. Forskarna kunde i studien inte notera att den mer långlivade fisken, på engelska ”pearl dace”, (*Margariscus margarita*) uppvisade samma reproduktionsmisslyckande och drastiska populationsminskning som den amerikanska elritsan i testsjön. Forskarna föreslår att riskerna vid exponering för EE_2 och andra xenoöstrogener är olika hos arter med olika livshistorieegenskaper som exempelvis livslängd.

I följande två fältstudier (Jobling *et al.* 1998, van Aerle *et al.* 2001) har forskarna inte fokuserat på att undersöka effekten från just EE_2 men genom att analysera koncentrationer av VTG i plasman hos fiskar har de kunnat fastställa att de har utsatts för någon typ av xenoöstrogen. Jobling *et al.* (1998) var först ut med att undersöka hur mörtar (*Rutilus rutilus*) som lever i floder nedströms om vattenreningsverk i Storbritannien påverkades av xenoöstrogener. Studien visade att det var en signifikant skillnad i andelen mörthanar som uppvisade intersexualism mellan populationerna som levde nedströms vattenreningsverken jämfört med kontrollpopulationer som inte levde i anknytning till reningsverken. Förekomsten av andelen hanar som uppvisade tecken på intersexualism varierade från 16 % till 100 % i populationerna som levde nedströms reningsverken. Förekomsten av andelen hanar som uppvisade tecken på intersexualism var som max 18,1 % i en population bland kontrollgrupperna.

van Aerle *et al.* (2001) undersökte om graden av intersexualism var något som var artspecifikt för mörtarna eller om det var en generell trend bland fiskar som lever i floder nedströms om vattenreningsverk i Storbritannien. De undersökte därför graden av intersexualism hos sandkrypare (*Gobio gobio*) i floder som bekräftats innehålla mört som uppvisat intersexualism. Resultaten från deras studie visade att även de hittade hanar som uppvisade olika grader av intersexualism och att de hade förhöjda halter av VTG i plasman. Andelen hanar i varje population var inte lika hög som hos mörthanarna i studien av Jobling *et al.* (1998) studie. Dock förekom det i vissa populationer att mer än hälften av gonaderna i 40 % av individerna som uppvisade intersexualism bestod av äggstocksvävnad. Slutsatsen de drog från denna studie var att uppvisande av intersexualism inte är något artspecifikt för fiskar i floder i Storbritannien.

Reglering kring utsläpp av EE_2

Inom den Europeiska Unionen regleras och omfattas utsläpp och tillstånd rörande läkemedel av kommissionsdirektiv. Direktiven listar krav för att utveckla strategier för hur föroreningar av vattendrag genom läkemedelssubstanser ska hanteras och motverkas (Avar *et al.* 2016). EE_2 var ett av tre ämnen som föreslogs läggas till den första bevakningslistan inom EU (Europaparlamentets och rådets direktiv 2013/39/EU) över ämnen som kan innebär en risk för att förorena vattendrag och organismerna som lever där. Detta genom att de föreslogs inkluderas i artikel 8b i Europaparlamentet och rådets direktiv 2008/105/EG. Genom att EE_2 tagits upp på listan ska EU och dess medlemsländer verka för att skaffa sig mer kunskap om ämnet. De ska undersöka i vilka koncentrationer ämnet förekommer i naturen, kartlägga hur ämnet hotar att påverka vattendrag och dess organismer samt ta fram lämpliga åtgärder för att hantera den risk som det utgör (Europeiska Unionen, 2013). Detta blev också fallet då bevakningslistan antogs genom Kommissionens genomförandebeslut (EU) 2015/495 (Europeiska Unionen, 2015). Läkemedelssubstanser upptagna i bevakningslistan är inte upptagna i EUs prioriteringslista över miljöföroreningar men de kan bli tillagda i framtiden (Avar *et al.* 2016).

Diskussion

Att EE_2 påverkar fiskars reproduktionsförmåga tycker jag att denna litteraturstudie har visat. Tydligast blir det kanske från resultaten från de laborativa studier som har presenterats eftersom forskarna i dessa experiment har kunnat utesluta många av de faktorer som fiskarna utsätts för i naturen och därför nästan enbart kunnat undersöka hur EE_2 har påverkat fiskarnas reproduktion. Resultaten från de laborativa studierna visar att exponering för EE_2 påverkar könsdifferentieringen hos de exponerade fiskarna (Papoulias *et al.* 2000, Fenske *et al.* 2005). Intressant att notera är att exponeringen för EE_2 i undersökningen med zebrafiskarna ledde till olika grader av intersexualism medan det i studien med medakafiskarna resulterade i ett fenotypiskt könsbyte från genetiska hanar till honor.

Det tyder på att fiskars livshistorieegenskaper spelar en betydande roll för hur de kan komma att påverkas. Detta är något som Kidd *et al.* (2007) anger som en trolig förklaring till varför populationen av fisken pearl dace inte påverkades i samma negativa utsträckning som den amerikanska elritsan även fast de uppehöll sig i samma sjö där exponeringen för EE_2 ägde rum. I samma studie visade det sig att populationen av amerikanska elritsor i stort sett kraschade två år efter exponeringen för EE_2 inleddes. Liknande mönster kunde noteras i undersökningen av (Bhandari *et al.* 2015) då exponeringen för EE_2 påverkade populationen av medakafiskar över generationer. Detta då kommande generationer till fiskar som

exponerats uppvisade en minskad fertilitet och bland embryon konstaterades en högre mortalitet. Att påverkan från EE_2 sträcker sig över generationer och ger den direkta konsekvensen i form av populationsminskningar kan komma att drabba enskilda arter hårt. Om det dessutom leder till att hela populationer av fiskar utplånas kan det komma att drabba hela ekosystem. Därför är det viktigt att fortsätta arbetet med att kartlägga hur EE_2 påverkar fiskar.

De flesta av ovan nämnda resultat har erhållits från laborativa undersökningar, där forskare har kunnat styra under vilka förhållanden och för vilka koncentrationer EE_2 fiskarna har utsatts för. Därmed blir det svårt att dra några direkta slutsatser över hur fiskar i det fria påverkas av utsläppen. Detta eftersom fiskarna i naturen inte enbart exponeras för EE_2 utan även en rad andra läkemedel och även tungmetaller med endokrinstörande effekter (Soeffker & Tyler 2012). För även om fältstudierna av Jobling *et al.* (1998) och van Aerle *et al.* (2001) visar hur fiskar påverkas då de har exponerats för någon form av xenoöstrogener, är det svårt att påvisa om det är exponeringen av xenoöstrogener i sig som leder till en hög grad av intersexualism hos mörtar och sandkrypare eller om det är en effekt av xenoöstrogener tillsammans med andra endokrinstörande ämnen. Då det finns fältstudier som visar på att fiskar påverkas av endokrinstörande ämnen är det viktigt som Wise *et al.* (2011) nämner att få en utökad kunskap om hur dessa ämnen samverkar och påverkar fiskar och då främst med avseende på deras reproduktion.

En intressant studie i avseendet med fördelarna mellan laborativa studier kontra fältstudier är den studie som Kidd (*et al.* 2007) utförde. Detta eftersom forskarna har lyckats kontrollera koncentrationen av EE_2 som fiskarna i sjön har exponerats för, samtidigt som de har kunnat studera och hålla fiskarna i en sjö som för övrigt har ett orört och naturligt förekommande ekosystem. Sjön har utsatts för normalt förekommande väderförhållanden och sammansättningen av arter i sjön har inte heller påverkats. Jag tror att liknande studier där forskarna utför undersökningar i naturliga men ändå kontrollerade miljöer kan ge värdefull information om hur fiskar påverkas av EE_2 och andra endokrinstörande ämnen i naturliga förhållanden.

Utöver ovan nämnda undersökningarna som har tagit upp de direkta effekterna EE_2 har på fiskar och deras reproduktion visar de två beteendestudierna av Majewski *et al.* (2002) och Saaristo *et al.* (2009) att beteenden kopplade till parning hos hanar av de båda arterna sandstubb och knölskallelöja också har kommit att påverkas negativt vid exponering för EE_2. Därmed kan det konstateras att EE_2 har en stor påverkan på fiskars reproduktion och det innefattar allt från direkta fysiologiska påverkningar till förändrade parningsbeteenden.

Framtiden

Att Europeiska Unionen har valt att införa EE_2 på en bevakningslista över ämnen som antas utgöra ett potentiellt hot mot vattendrag och dess organismer genom att anta den genom Kommissionens genomförandebeslut (EU) 2015/495 (Europeiska Unionen, 2015) tycker jag är viktigt. Jag tycker att EU sänder en tydlig signal om att de vill ta reda på vilka konsekvenser utsläppen av EE_2 får för organismer som lever i vattendrag i anslutning till reningsverk. För även om Wise *et al.* (2011) konstaterar att risken för att koncentrationen av EE_2 i dricksvatten ska ge negativa hälsoeffekter på människor är minimal tycker jag att det är vår skyldighet att se till att vår omgivning inte tar skada av utsläppen så att det inte får långtgående konsekvenser.

Hur ska då utsläppen av EE_2 till naturen minskas? Ett sätt kan vara att se över dagens

reningsverk. För även om jag i denna litteraturstudie enbart har konstaterat att reningen av EE_2 i reningsverken inte är fullständig skulle det vara intressant att få veta vad som skulle krävas för att förbättra reningen och hur den ekonomiska kostnaden jämfört med nyttan för miljön och fiskar skulle se ut. Ett inte lika tänkbart alternativ skulle vara att reglera användandet av preventivmedel. Att förbjuda preventivmedel som innehåller xenoöstrogener skulle visserligen minska utsläppen till naturen men samtidigt skulle det inkräkta på framförallt kvinnors rätt till att styra över deras hälsa och tiden för när de vill skaffa barn. Ett förbjudande av preventivmedel innehållandes xenoöstrogener skulle få samhälleliga och globala konsekvenser (Wise *et al.* 2011).

Avslutningsvis ska det bli intressant att följa den fortsatta forskningen kring hur syntetiska hormoner påverkar reproduktionen hos fiskar. Syntetiskt progestin ingår ofta tillsammans med EE_2 i preventivmedel för att kontrollera menstruation och graviditet (Liu *et al.* 2012). Just syntetiskt progestin och effekterna från utsläpp av ämnet tror jag är något som kommer studeras i högre utsträckning i framtiden. Det finns studier som har visat att zebrafiskar som utsatts för syntetiskt progestin har påverkat könsutvecklingen (Liang *et al.* 2015) men att syntetiska progestiners påverkan på fiskar är långt ifrån lika välstuderat som xenoöstrogener är (Han *et al.* 2014).

Tack

Tack till Monika Schmitz för kloka synpunkter och god handledning under arbetets gång. Även ett stort tack till personerna i min seminariegrupp Lars Höök, Moa Nordin, Marcus Nyström och Gustav Wikström för den konstruktiva kritiken som har förbättrat mitt arbete avsevärt. Tack till Malin Danhard för att du korrekturläste mitt arbete och hjälpte mig med bristfälliga meningsbyggnader. Slutligen vill jag återigen tacka Moa Nordin men även Ellinor Berkelind, Malin Jigrud och Erik Widén för ert stöd, sällskap och kloka åsikter under arbetets gång, utan er hade inte slutresultatet blivit så här pass bra.

Referenser

Andersson I, Parkman H, Jernelov A. 1990. The Role of Sediments as Sink or Source for Environmental Contaminants a Case Study of Mercury and Chlorinated Organic Compounds. Limnologica **20**: 347–360.

Aris AZ, Shamsuddin AS, Praveena SM. 2014. Occurrence of 17α-ethynylestradiol (EE2) in the environment and effect on exposed biota: a review. Environment International **69**: 104–119.

Avar P, Zrínyi Z, Maász G, Takátsy A, Lovas S, G-Tóth L, Pirger Z. 2016. β-Estradiol and ethinyl-estradiol contamination in the rivers of the Carpathian Basin. Environmental Science and Pollution Research International, doi 10.1007/s11356-016-6276-2.

Baatrup E, Henriksen PG. 2015. Disrupted reproductive behavior in unexposed female zebrafish (Danio rerio) paired with males exposed to low concentrations of 17α-ethinylestradiol (EE2). Aquatic Toxicology **160**: 197–204.

Belfroid AC, Van der Horst A, Vethaak AD, Schafer AJ, Rijs GBJ, Wegener J, Cofino WP. 1999. Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. Science of the Total Environment **225**: 101–108.

Bhandari RK, vom Saal FS, Tillitt DE. 2015. Transgenerational effects from early developmental exposures to bisphenol A or 17 alpha-ethinylestradiol in medaka, Oryzias latipes. Scientific Reports **5**: 9303.

Bjerselius R, Lundstedt-Enkel K, Olsén H, Mayer I, Dimberg K. 2001. Male goldfish reproductive behaviour and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17beta-estradiol. Aquatic Toxicology **53**: 139–152.

Caldwell DJ, Mastrocco F, Hutchinson TH, Länge R, Heijerick D, Janssen C, Anderson PD, Sumpter JP. 2008. Derivation of an Aquatic Predicted No-Effect Concentration for the Synthetic Hormone, 17α-Ethinyl Estradiol. Environmental science & technology **42**: 7046-7054.

Cargouet M, Perdiz D, Mouatassim-Souali A, Tamisier-Karolak S, Levi Y. 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). Science of the Total Environment **324**: 55–66.

Chow ESH, Cheng SH. 2003. Cadmium affects muscle type development and axon growth in zebrafish embryonic somitogenesis. Toxicological Sciences **73**: 149–159.

Corcoran J, Winter MJ, Tyler CR. 2010. Pharmaceuticals in the aquatic environment: A critical review of the evidence for health effects in fish. Critical Reviews in Toxicology **40**: 287–304.

Desbrow C, Routledge EJ, Brighty GC, Sumpter JP, Waldock M. 1998. Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening. Environmental Science & Technology **32**: 1549–1558.

Europeiska Unionen. 2013. EUROPAPARLAMENTETS OCH RÅDETS DIREKTIV 2013/39/EU av den 12 augusti 2013 om ändring av direktiven 2000/60/EG vad gäller prioriterade ämnen på vattenpolitikens område. WWW-dokument 2013-08-24: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/?uri=celex%3A32013L 0039. Hämtad 2016-04-21.

Europeiska Unionen. 2015. KOMMISSIONENS GENOMFÖRANDEBESLUT (EU) 2015/495 av den 20 mars 2015 om upprättande av en bevakningslista över ämnen för unionsomfattande övervakning inom vattenpolitikens område i enlighet med Europaparlamentet och rådets direktiv 2008/105/EG. WWW-dokument 2015-03-24: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/SV/TXT/?uri=ur iserv%3AOJ.L_.2015.078.01.0040.01.SWE. Hämtad 2016-04-21.

Fenske M, Segner H. 2004. Aromatase modulation alters gonadal differentiation in developing zebrafish (Danio rerio). Aquatic Toxicology **67**: 105–126.

Fenske M, Maack G, Schafers C, Segner H. 2005. An environmentally relevant concentration of estrogen induces arrest of male gonad development in zebrafish, Danio rerio. Environmental Toxicology and Chemistry **24**: 1088–1098.

Fent K, Weston AA, Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquatic Toxicology **76**: 122–159.

Goodhead RM, Tyler CR. 2009. Endocrine-Disrupting Chemicals and Their Environmental Impacts, 2:a uppl. Boca Raton: Taylor & Francis Group

Han J, Wang Q, Wang X, Li Y, Wen S, Liu S, Ying G, Guo Y, Zhou B. 2014. The synthetic progestin megestrol acetate adversely affects zebrafish reproduction. Aquatic Toxicology **150**: 66–72.

Holbech H, Kinnberg K, Petersen GI, Jackson P, Hylland K, Norrgren L, Bjerregaard P. 2006. Detection of endocrine disrupters: Evaluation of a Fish Sexual Development Test (FSDT). Comparative Biochemistry and Physiology C-Toxicology & Pharmacology **144**: 57–66.

Hu JY, Jin F, Wan Y, Yang M, An LH, An W, Tao S. 2005. Trophodynamic behavior of 4-nonylphenol and nonylphenol polyethoxylate in a marine aquatic food web from Bohai Bay, North China: Comparison to DDTs. Environmental Science & Technology **39**: 4801–4807.

James MO. 2011. Steroid catabolism in marine and freshwater fish. Journal of Steroid

Biochemistry and Molecular Biology **127**: 167–175.
Jobling S, Nolan M, Tyler CR, Brighty G, Sumpter JP. 1998. Widespread sexual disruption in wild fish. Environmental Science & Technology **32**: 2498–2506.
Jürgens MD, Holthaus KIE, Johnson AC, Smith JL, Hetheridge M, Williams RJ. 2002. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in English rivers. Environmental Toxicology and Chemistry **21**: 480–488.
Ketha H, Girtman A, Singh RJ. 2015. Estradiol assays-The path ahead. Steroids **99**: 39–44.
Kidd KA, Blanchfield PJ, Mills KH, Palace VP, Evans RE, Lazorchak JM, Flick RW. 2007. Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **104**: 8897–8901.
Klaasen C, Watkins J. 2010. Casarett & Doull's essentials of toxicology, 2:a uppl. The McGraw-Hill Companies, Kina.
Kwong RWM, Yu PKN, Lam PKS, Wang W-X. 2008. Uptake, elimination, and biotransformation of aqueous and dietary DDT in marine fish. Environmental Toxicology and Chemistry **27**: 2053–2063.
Liang Y-Q, Huang G-Y, Liu S-S, Zhao J-L, Yang Y-Y, Chen X-W, Tian F, Jiang Y-X, Ying G-G. 2015. Long-term exposure to environmentally relevant concentrations of progesterone and norgestrel affects sex differentiation in zebrafish (Danio rerio). Aquatic Toxicology **160**: 172–179.
Liew WC, Orban L. 2013. Zebrafish sex: a complicated affair. Briefings in Functional Genomics **13**: 172-178.
Liu S, Ying G-G, Zhao J-L, Zhou L-J, Yang B, Chen Z-F, Lai H-J. 2012. Occurrence and fate of androgens, estrogens, glucocorticoids and progestagens in two different types of municipal wastewater treatment plants. Journal of Environmental Monitoring **14**: 482–491.
Luzio A, Monteiro SM, Garcia-Santos S, Rocha E, Fontaínhas-Fernandes AA, Coimbra AM. 2015. Zebrafish sex differentiation and gonad development after exposure to 17α-ethinylestradiol, fadrozole and their binary mixture: A stereological study. Aquatic Toxicology **166**: 83–95.
Majewski AR, Blanchfield PJ, Palace VP, Wautier K. 2002. Waterborne 17α-Ethynylestradiol Affects Aggressive Behaviour of Male Fathead Minnows (Pimephales promelas) under Artificial Spawning Conditions. Water Quality Research Journal of Canada **37**: 697–710.
Metcalfe CD, Metcalfe TL, Kiparissis Y, Koenig BG, Khan C, Hughes RJ, Croley TR, March RE, Potter T. 2001. Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by in vivo assays with Japanese medaka (Oryzias latipes). Environmental Toxicology and Chemistry **20**: 297–308.
Mills MR, Arias-Salazar K, Baynes A, Shen LQ, Churchley J, Beresford N, Gayathri C, Gil RR, Kanda R, Jobling S, Collins TJ. 2015. Removal of ecotoxicity of 17α-ethinylestradiol using TAML/peroxide water treatment. Scientific Reports **5**: 10511.
Nash JP, Kime DE, Van der Ven LTM, Wester PW, Brion F, Maack G, Stahlschmidt-Allner P, Tyler CR. 2004. Long-term exposure to environmental concentrations of the pharmaceutical ethynylestradiol causes reproductive failure in fish. Environmental Health Perspectives **112**: 1725–1733.
Papoulias DM, Noltie DB, Tillitt DE. 2000. An in vivo model fish system to test chemical effects on sexual differentiation and development: exposure to ethinyl estradiol. Aquatic Toxicology **48**: 37–50.
Purdom CE, Hardiman PA, Bye VJ, Eno NC, Tyler CR, Sumpter JP. 1994. Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works. Chemistry and Ecology **8**: 275-285.
Saaristo M, Craft JA, Lehtonen KK, Lindstrom K. 2009. Sand goby (Pomatoschistus minutus) males exposed to an endocrine disrupting chemical fail in nest and mate competition. Hormones and Behavior **56**: 315–321.

Santos D, Matos M, Coimbra AM. 2014. Developmental toxicity of endocrine disruptors in early life stages of zebrafish, a genetic and embryogenesis study. Neurotoxicology and Teratology **46**: 18–25.

Scholz S, Klüever N. 2009. Effects of Endocrine Disrupters on Sexual, Gonadal Development in Fish. Sexual Development **3**: 136–151.

Segner H, Caroll K, Fenske M, Janssen CR, Maack G, Pascoe D, Schafers C, Vandenbergh GF, Watts M, Wenzel A. 2003. Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project. Ecotoxicology and Environmental Safety **54**: 302–314.

Shore LS, Gurevitz M, Shemesh M. 1993. Estrogen as an environmental pollutant. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology **51**: 361–366.

Soeffker M, Tyler CR. 2012. Endocrine disrupting chemicals and sexual behaviors in fish - a critical review on effects and possible consequences. Critical Reviews in Toxicology **42**: 653–668.

Thorpe KL, Cummings RI, Hutchinson TH, Scholze M, Brighty G, Sumpter JP, Tyler CR. 2003. Relative Potencies and Combination Effects of steroidal Estrogens in Fish. Environmental Science & Technology **37**: 1142–1149.

Tyler CR, vanderEerden B, Jobling S, Panter G, Sumpter JP. 1996. Measurement of vitellogenin, a biomarker for exposure to oestrogenic chemicals, in a wide variety of cyprinid fish. Journal of Comparative Physiology B-Biochemical Systemic Environmental Physiology **166**: 418–426.

Tyler CR, van Aerle R, Hutchinson TH, Maddix S, Trip H. 1999. An in vivo testing system for endocrine disruptors in fish early life stages using induction of vitellogenin. Environmental Toxicology and Chemistry **18**: 337–347.

van Aerle R, Nolan TM, Jobling S, Christiansen LB, Sumpter JP, Tyler CR. 2001. Sexual disruption in a second species of wild cyprinid fish (the gudgeon, Gobio gobio) in United Kingdom freshwaters. Environmental Toxicology and Chemistry **20**: 2841–2847.

von Hofsten J, Olsson PE. 2005. Zebrafish sex determination and differentiation: Involvement of FTZ-F1 genes. Reproductive Biology and Endocrinology **3**: 63.

Weber K, Goerke H. 2003. Persistent organic pollutants (POPs) in antarctic fish: levels, patterns, changes. Chemosphere **53**: 667–678.

Wise A, O'Brien K, Woodruff T. 2011. Are oral contraceptives a significant contributor to the estrogenicity of drinking water? Environmental Science & Technology **45**: 51–60.

Hur påverkar utsläpp av det syntetiska hormonet 17α-etinylöstradiol (EE_2) reproduktionen hos fiskar?: etikbilaga

Alexander Valén Fransson

Självständigt arbete i biologi 2016

Samhällets hantering

Eftersom det är vi människor som står för utsläppen av EE_2 till naturen tycker jag att det är viktigt att vi också tar ansvar för att se till att de negativa konsekvenserna av vårt handlade blir så små som möjligt. Majoriteten av mina referenser har använt sig av antingen fiskar eller fiskembryon som försöksdjur. Ofta anger forskarna att de följer gällande lagar för försöksdjur och att de försöker utföra så få test som möjligt för djurens bästa. Jag tycker frågan om det är etiskt rätt att utföra försök på djur är generellt väldigt svårbesvarad. I det här fallet har de flesta studierna syftet att undersöka hur fiskpopulationer i naturen påverkas från utsläppen av EE_2. Fördelarna med laborativa studier är att det i en kontrollerad miljö går att välja vilka faktorer som ska undersökas. Detta kan öka förståelsen för hur ämnen som exempelvis EE_2 påverkar fiskar i naturen. Samtidigt kan det ses som nackdelarna med laborativa studier, att det är svårt att säga hur olika faktorer samverkar och påverkar fiskar under naturliga förhållanden. Med detta sagt tycker jag att det är okej att utföra försök på fiskar i de fall forskarna väl har motiverat varför studien ska utföras och att de kan förväntas få fram resultat som bidrar till att öka förståelsen för hur fiskar i naturen påverkas och hur effekterna från EE_2 kan minskas.

Eftersom utsläppen av EE_2 ofta kommer från preventivmedel kan det diskuteras ifall man genom lagar eller regler ska påverka användandet av dessa. Generellt tycker jag att tillgången till preventivmedel är varje individs rättighet och i de flesta fall handlar det om kvinnors rätt till att välj när och om de vill bli gravida. Visserligen tror jag att det kan vara bra att upplysa människor om vad utsläppen av EE_2 får för konsekvenser i naturen men att det inte är rätt väg att gå för att få bukt med problemen. Jag tror istället att lösningen kan vara att fokusera forskning och resurser kring hur man kan öka reningsverkens effektivitet för att ta bort en så stor mängd EE_2 som möjligt innan det når naturen.

Forskningsetik

Mitt arbete baseras huvudsakligen på originalartiklar där forskarna har utfört egna undersökningar och som har använt sig av relevanta metoder där de har kontrollgrupper de kan jämföra resultaten mot. Genom att använda mig av gällande formalia för källhänvisning har jag tydliggjort varifrån informationen är hämtad och vem som tycker vad. Jag har inte inkluderat egna åsikter i arbetet, förutom i diskussionsdelen där det tydligt framgår att det är just mina åsikter. Slutligen har jag försökt att ge en rättvis och nyanserad bild av det valda ämnet. Noterbart är att resultaten från den information jag har funnit i väldigt stor utsträckning pekat åt samma håll.