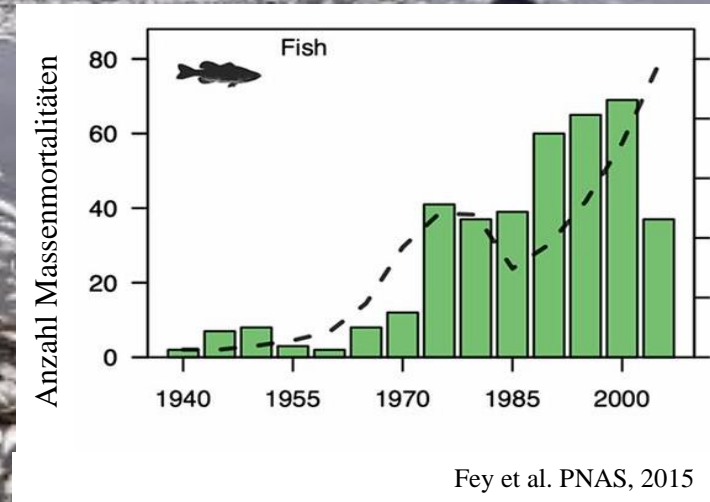
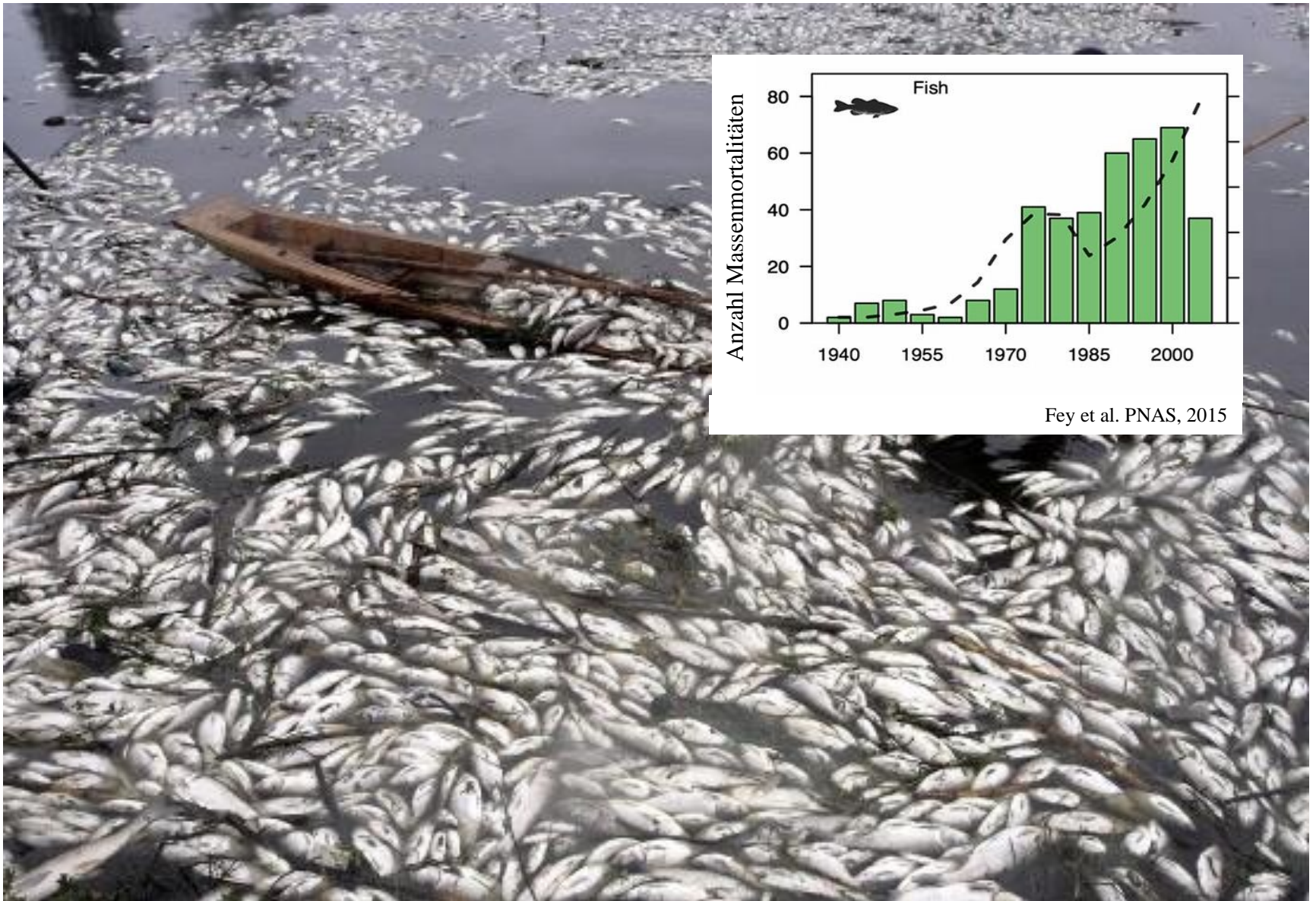


Fische als Spürnasen für Wasserqualität

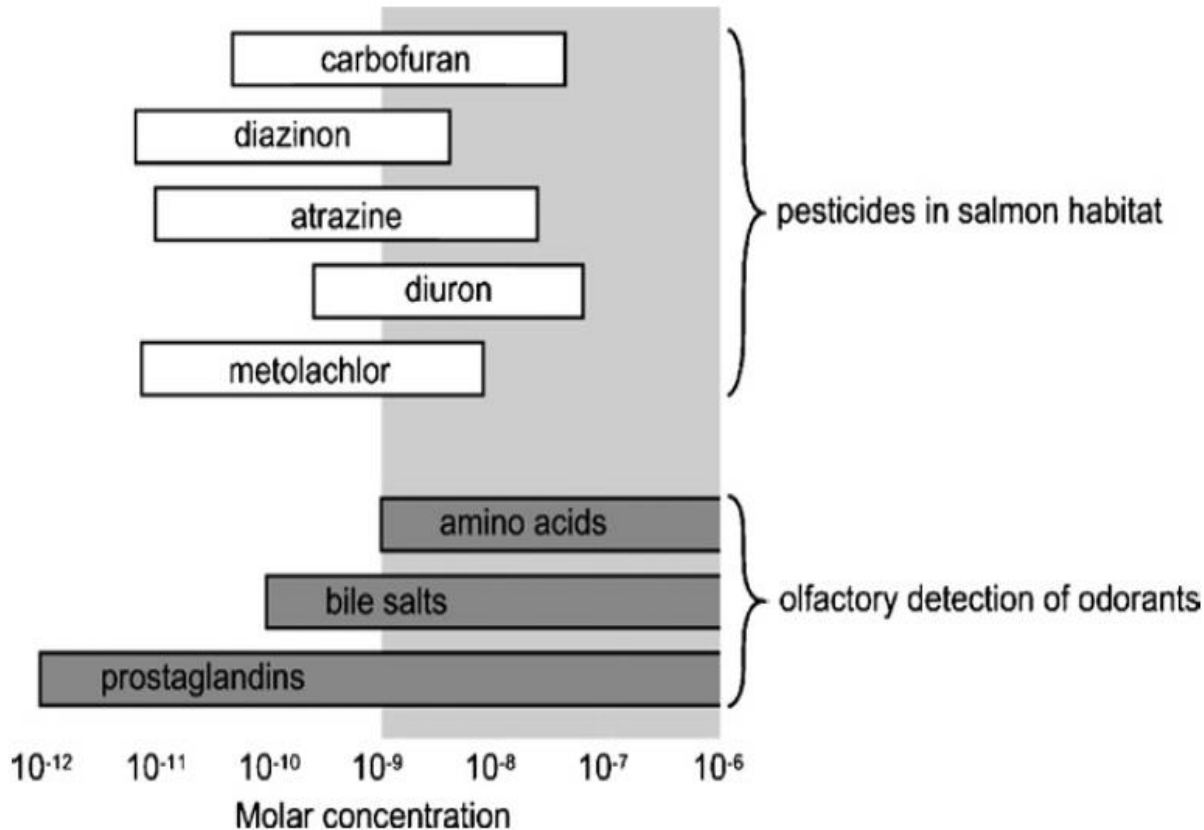
Helmut Segner
Zentrum für Fisch- und Wildtiermedizin
Vetsuisse Fakultät
Universität Bern

Fische als Spürnasen: eine eindeutige Sache bei hohen, letalen Konzentrationen von Chemikalien



Fische als Spürnasen: was ist mit Stoffen, die keine letalen Konzentrationen im Gewässer erreichen ?

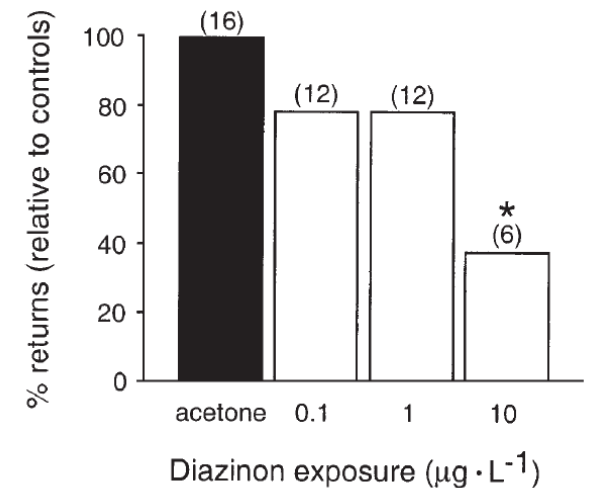
...beispielsweise können Pestizide bei sehr niedrigen, nicht-letalen Konzentrationen den Geruchssinn von Fischen beeinträchtigen



Diazinon

Akute Fisch-LC50:
6400 $\mu\text{g/L}$

Verändertes Homing
Verhalten von Lachs:
10 $\mu\text{g/L}$



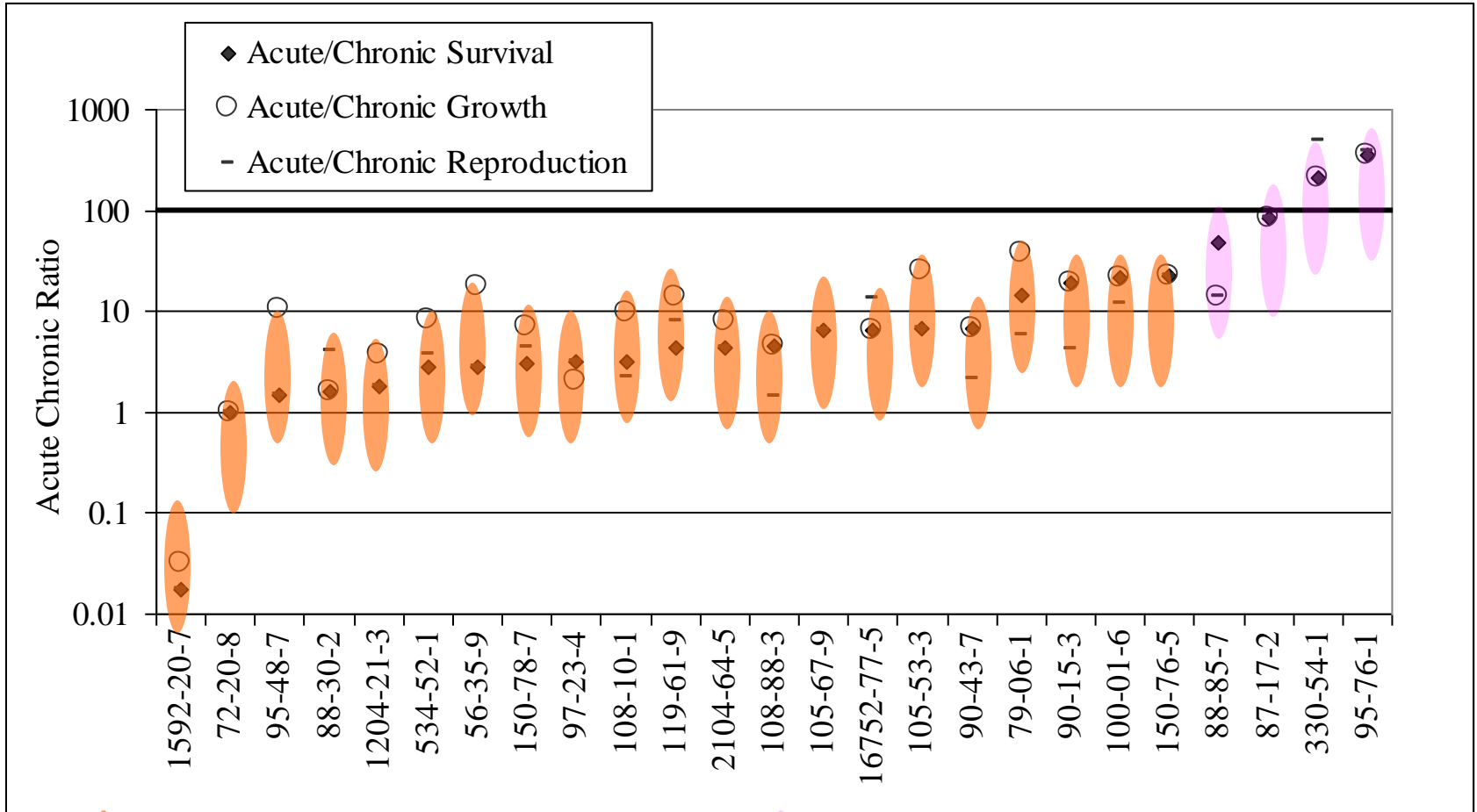
Fische als Spürnasen für Spurenstoffe: worin besteht die Herausforderung?

Vorhandene Ansätze und Werkzeuge zu Erfassung und Bewertung toxischer Effekte bei Fischen sind stark ausgerichtet auf kurzfristige Wirkungen, hohe Konzentrationen, und apikale Effekte

Spurenstoffe

- sind durch spezifische Wirkweisen (**mode of action, MoA**) bereits in niedrigen Konzentrationen biologisch aktiv
- können über subtile Veränderungen in physiologischen Parametern von Organismen hervorrufen (z.B. im Verhalten, in Entwicklungsmustern, in der Immunkapazität) zu Beeinträchtigungen der Fitness führen
- und dies insbesondere auch bei chronischer Exposition.

Viele Spurenstoffe zeigen unauffällige akute Toxizität, aber hohe chronische Toxizität



acute and chronic toxicity follow baseline MoA

acute toxicity follows baseline MoA, chronic toxicity follows specific MoA

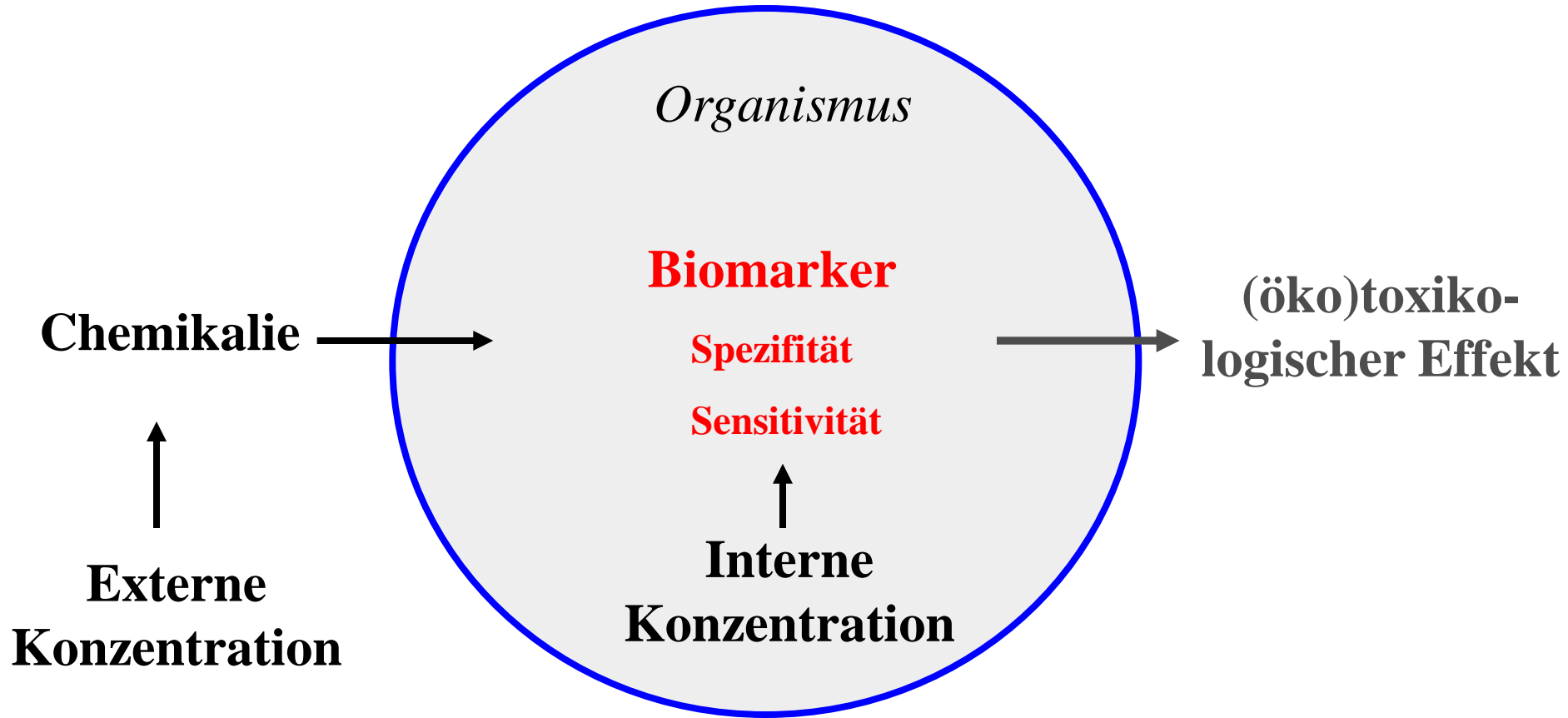
Fische als Spürnasen für Spurenstoffe: worin besteht die Herausforderung?

Spurenstoffe unterfliegen wie Tarnkappenbomber das Radar einer auf kurzfristige, hochdosierte, und apikale Effekte ausgelegten ökotoxikologischen Erfassung und Bewertung.



⇒ Um in der ökotoxikologischen Testung wie im Biomonitoring Fische als Spürnasen für Spurenstoffe einsetzen zu können, braucht es Nachweisparameter, die auf die spezifischen Wirkweisen (MoA) der Spurenstoffe ansprechen

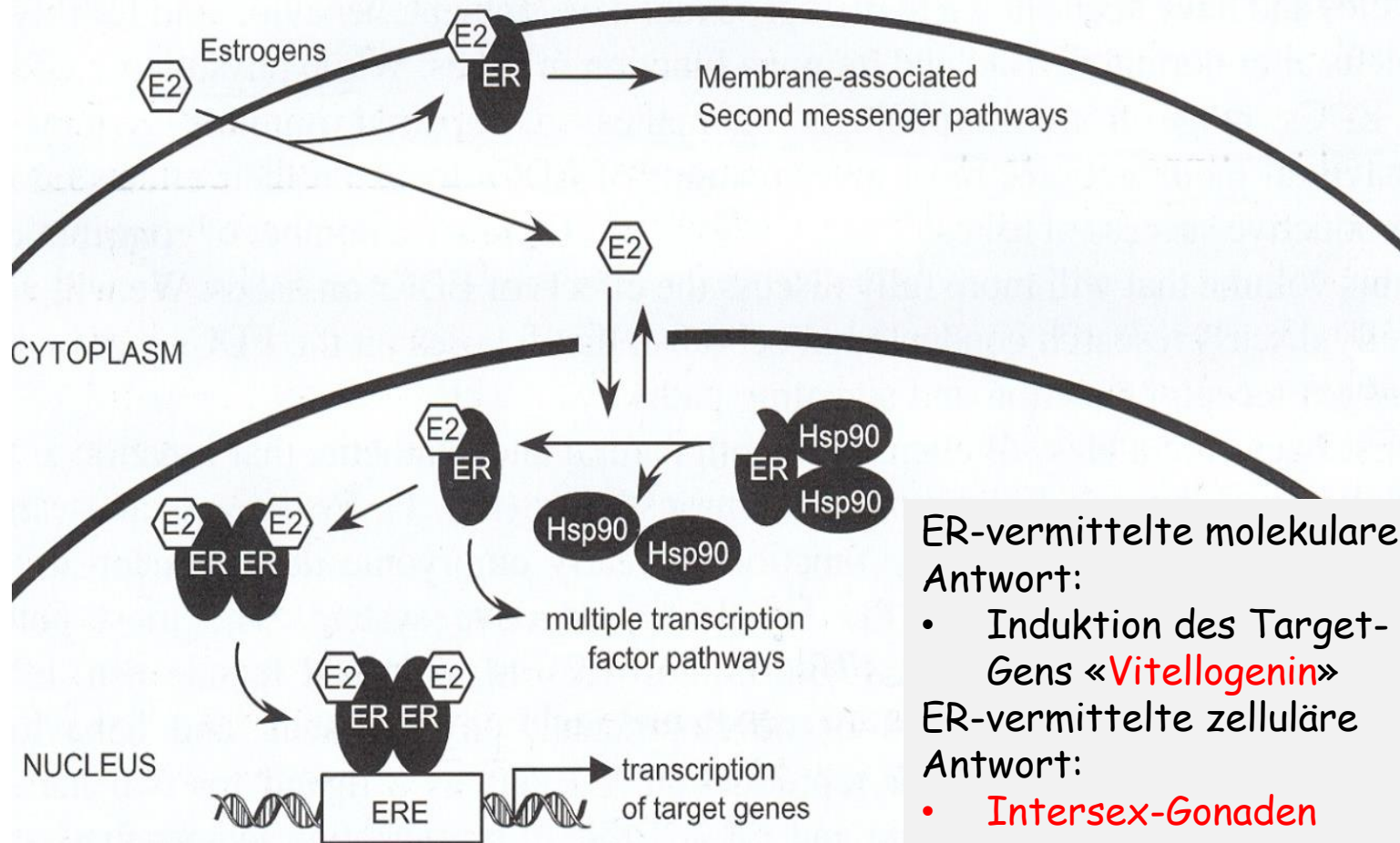
„Biomarker“ als spezifische und sensitive Indikatoren für Spurenstoffe



Biomarker sind molekulare, zelluläre und physiologische Antworten in dem Kontinuum von Exposition zur toxikologischen und ökologischen Wirkung

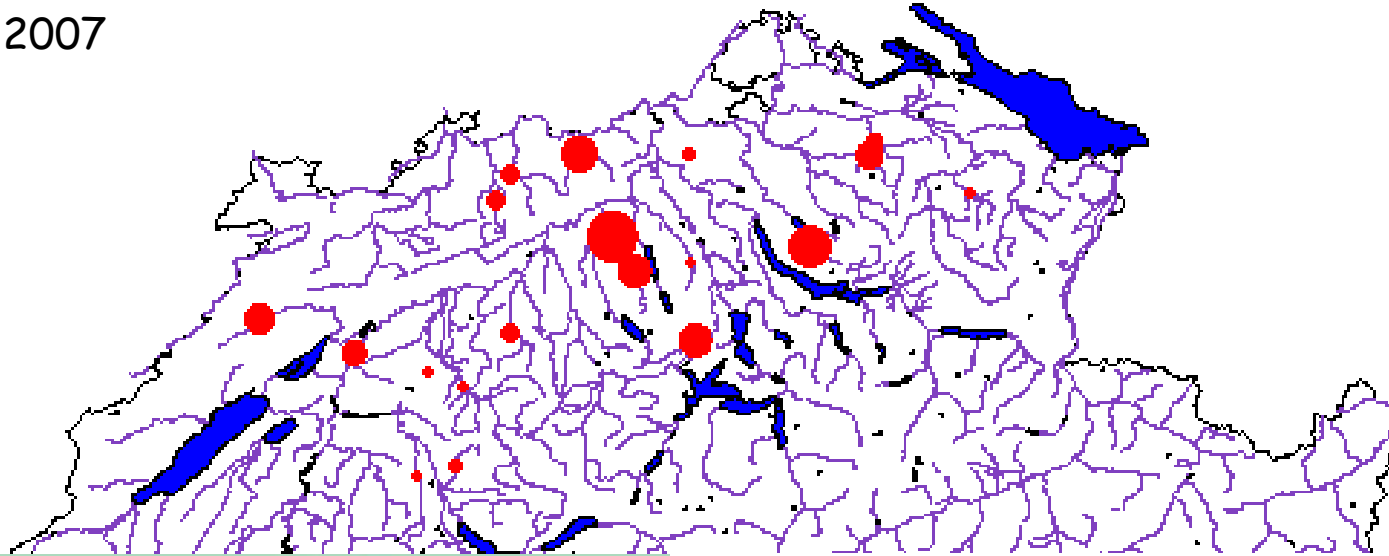
Spezifität: MoA-basierte Biomarker für das „Aufspüren“ von Spurenstoffen durch Fische

Beispiel: Aktivierung des Östrogenrezeptor-Weges durch hormonaktive Spurenstoffe (z.B. EE2)



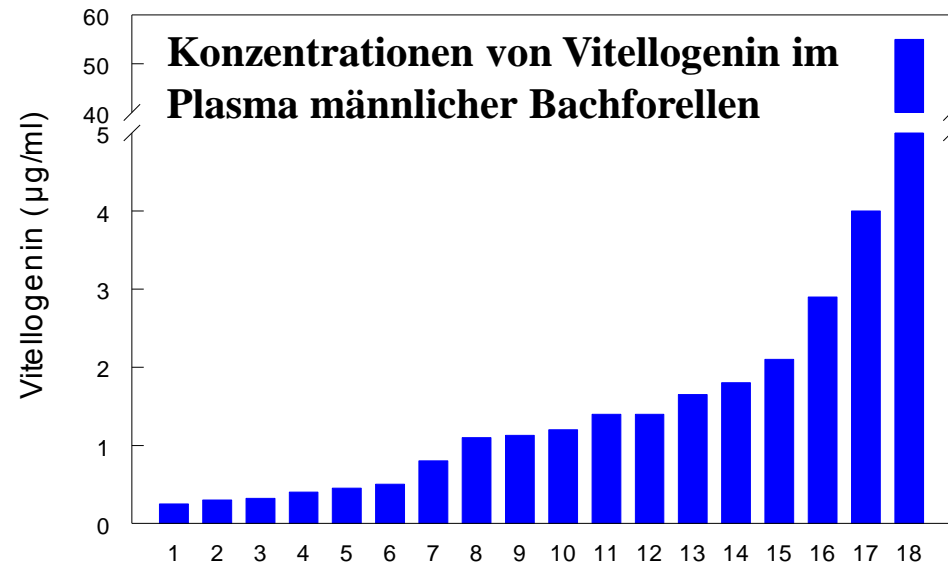
Vitellogenin-Biomarker in Fischen: Biomonitoring der östrogenen Belastung in Schweizer Gewässern

Burki et al. 2007

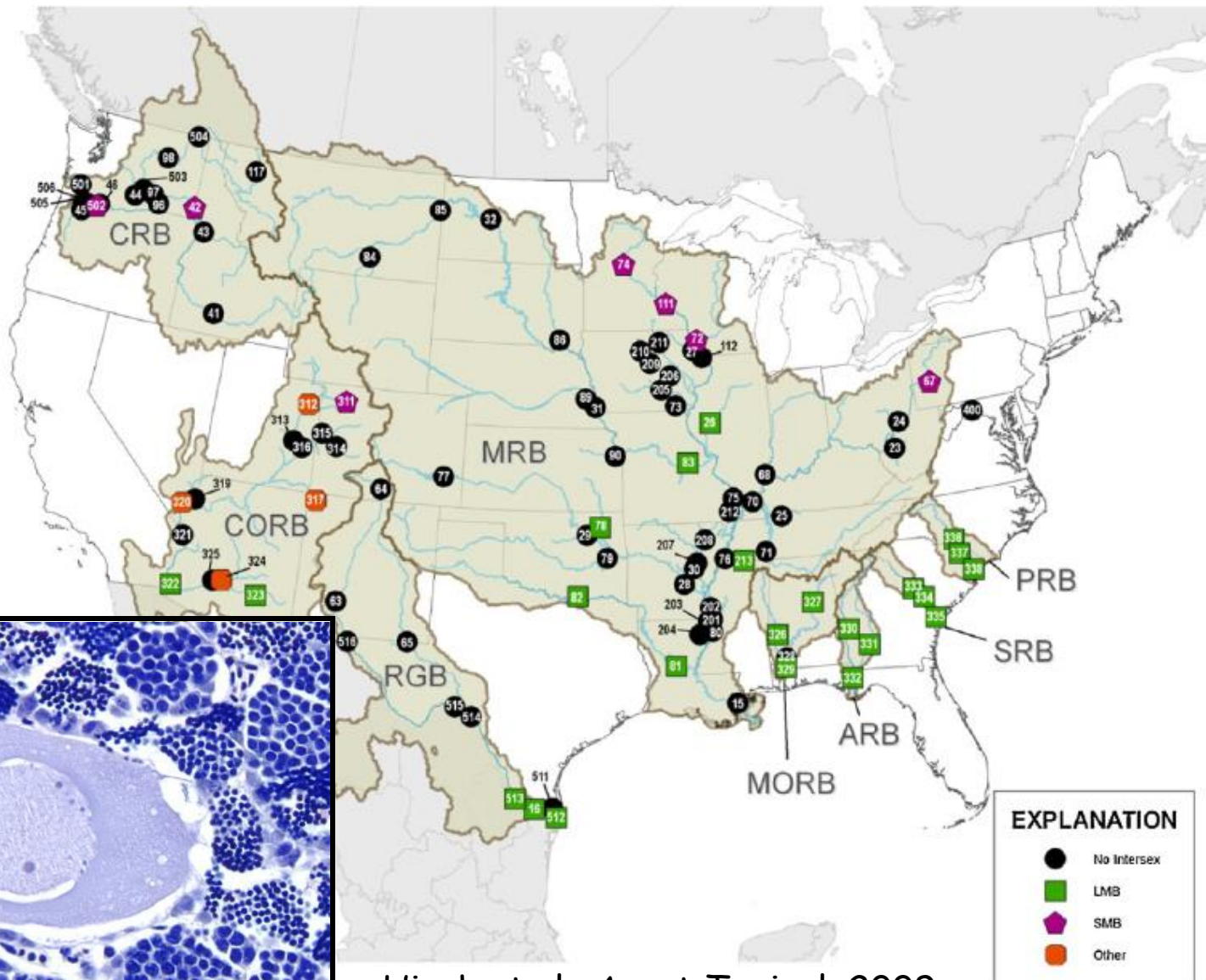


E2 equivalents (median flow: Q_{182})

- 0–0.1 ng E2/L
- 0.1–1 ng E2/L
- 1–5 ng E2/L



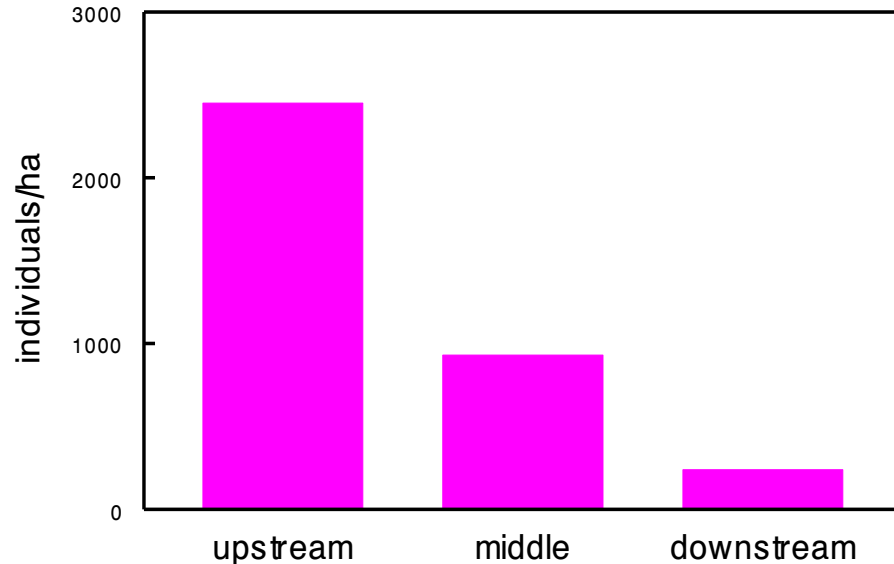
Intersex-Biomarker in Fischen: Biomonitoring der östrogenen Belastung in US-Gewässern



Hinck et al., *Aquat Toxicol*, 2009

Biomarker sind wichtige diagnostische Werkzeuge zur Aufklärung ökologischer Effekte von Spurenstoffen

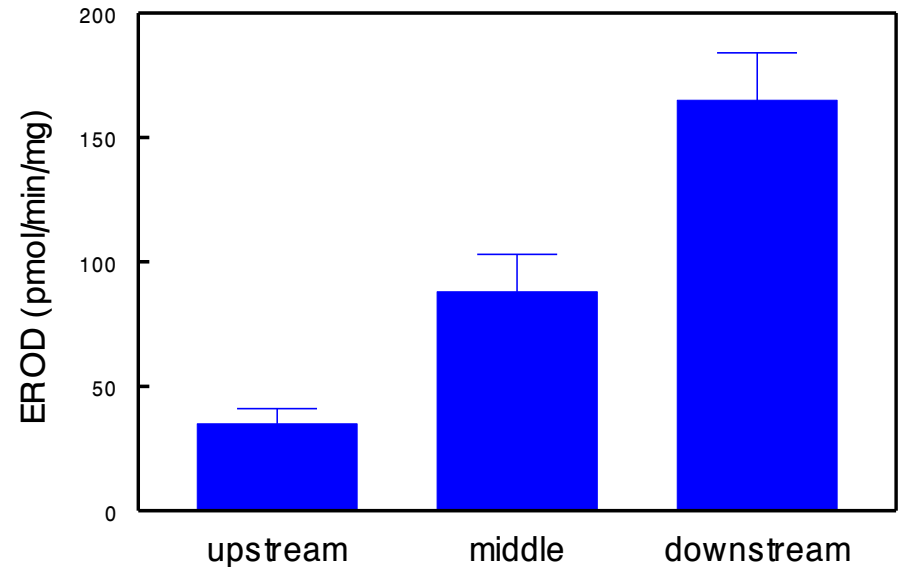
Bachforellen-Abundanz



→ **downstream**

Fluss Necker, CH

Biomarker EROD
zeigt Exposition an Dioxin-
ähnliche Stoffe an

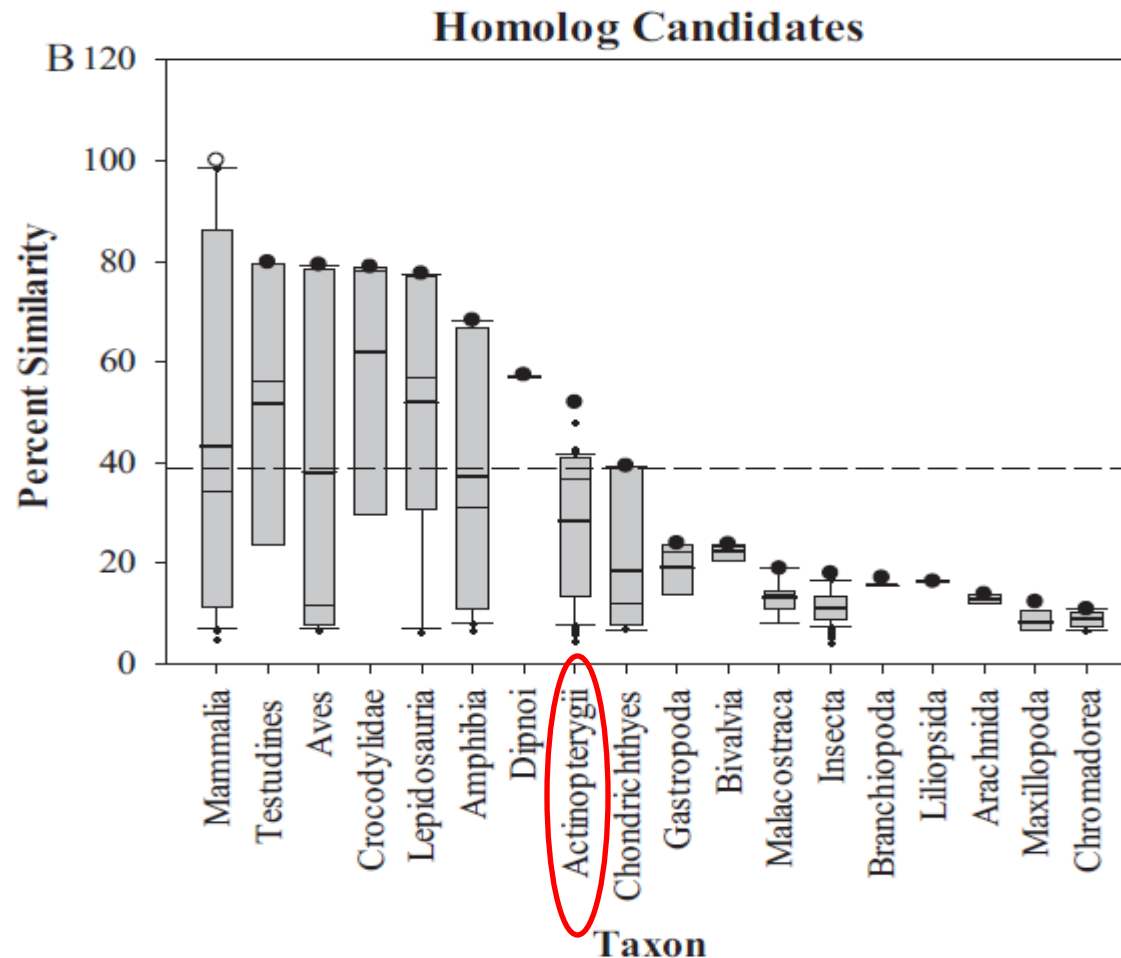


→ **downstream**

Zimmerli and Segner, unpublished

Wie finden wir potenzielle Biomarker für Spurenstoffe in Fischen ?

Die **evolutionäre Konservierung** von Gene und Stoffwechselwegen erlaubt uns die Nutzung von a-priori Wissen aus Hummantoxikologie und -pharmakologie

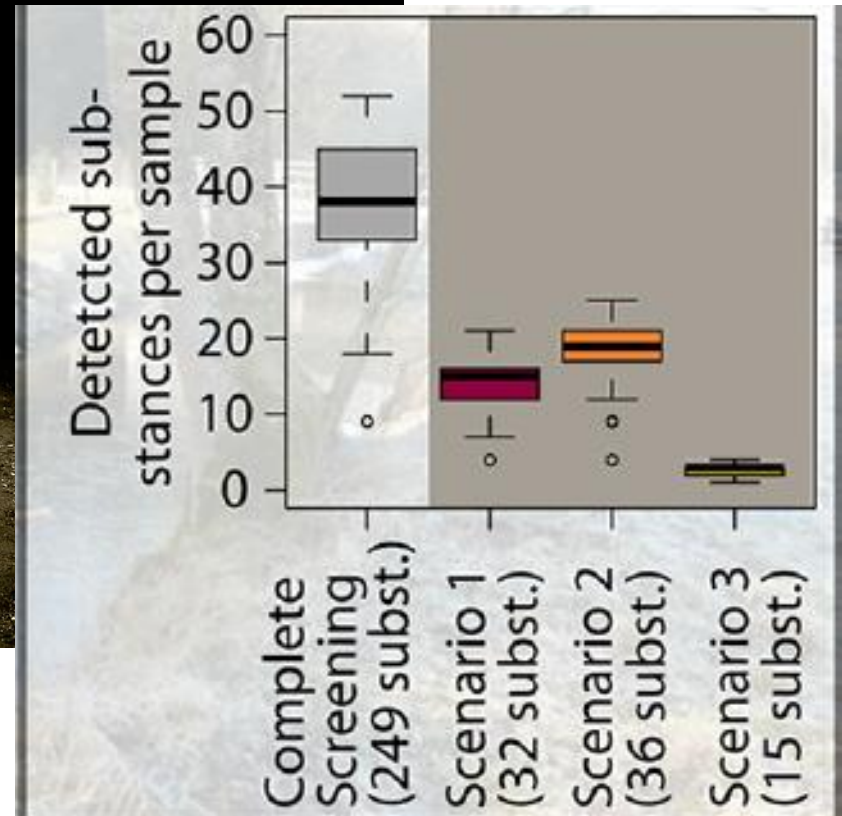
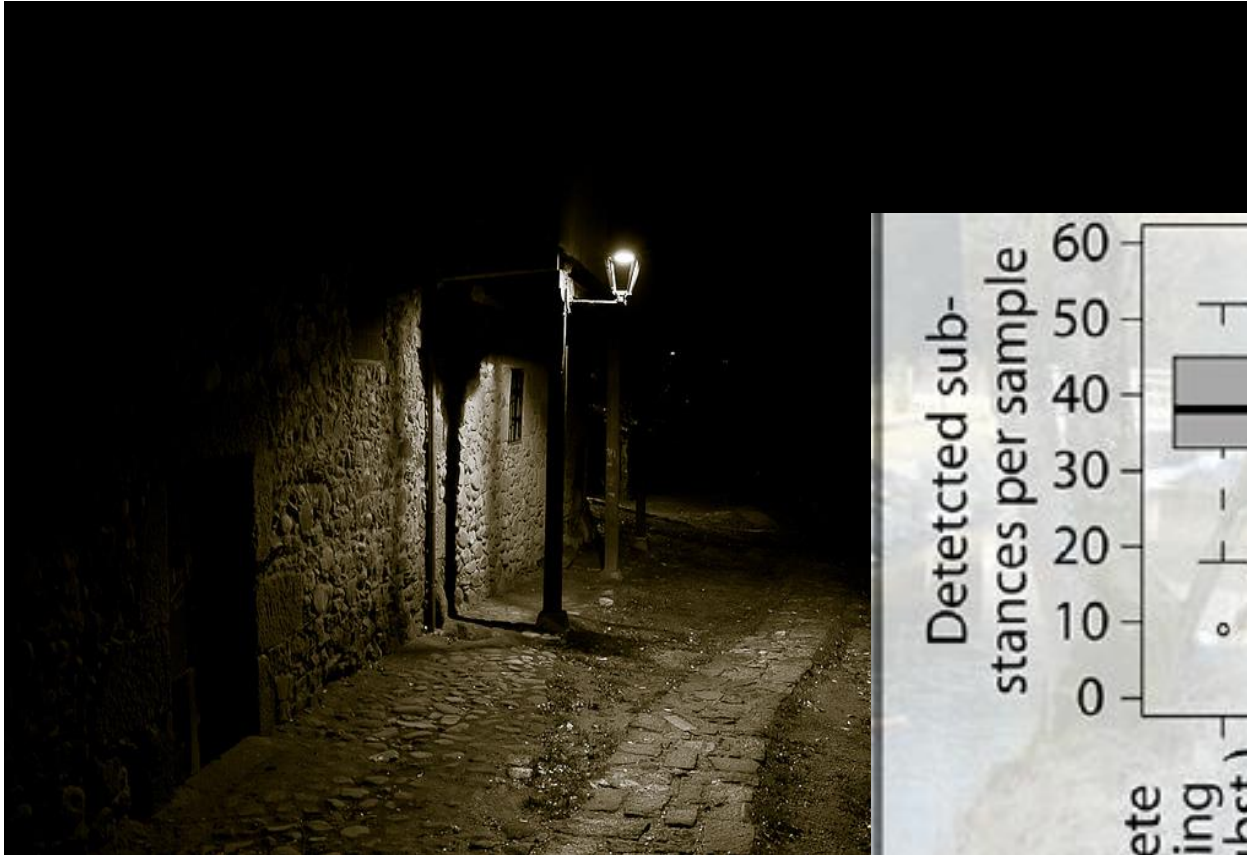


Caveat: die Wirkweisen (MoA) von Spurenstoffen können sehr divers sein - Beispiel Pharmaka

Stoff	Wirkklasse	Molekulare Ziele (potenzielle Biomarker)
Fluoxetin	SSRI Anti-Depressivum	Serotonin-Transporter (SERT) 5-Hydroxytryptamin-Rezeptor
Atenolol, Propanolol	β -Blocker	β -Adrenorezeptoren
Diclofenac	Nicht-steroidaler Entzündungshemmer	Cyclooxygenasen COX
Carbamazepim	Anti-Epileptikum	Spannungs-abhängige Na-Kanäle
Clofibrat	Lipidsenker	PPAR
Trenbolon	Anaboles Steroid	Androgenrezeptor
Clarithromycin	Makrolid-Antibiotikum	CYP3A

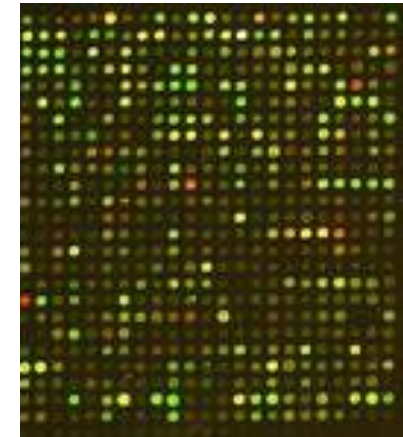
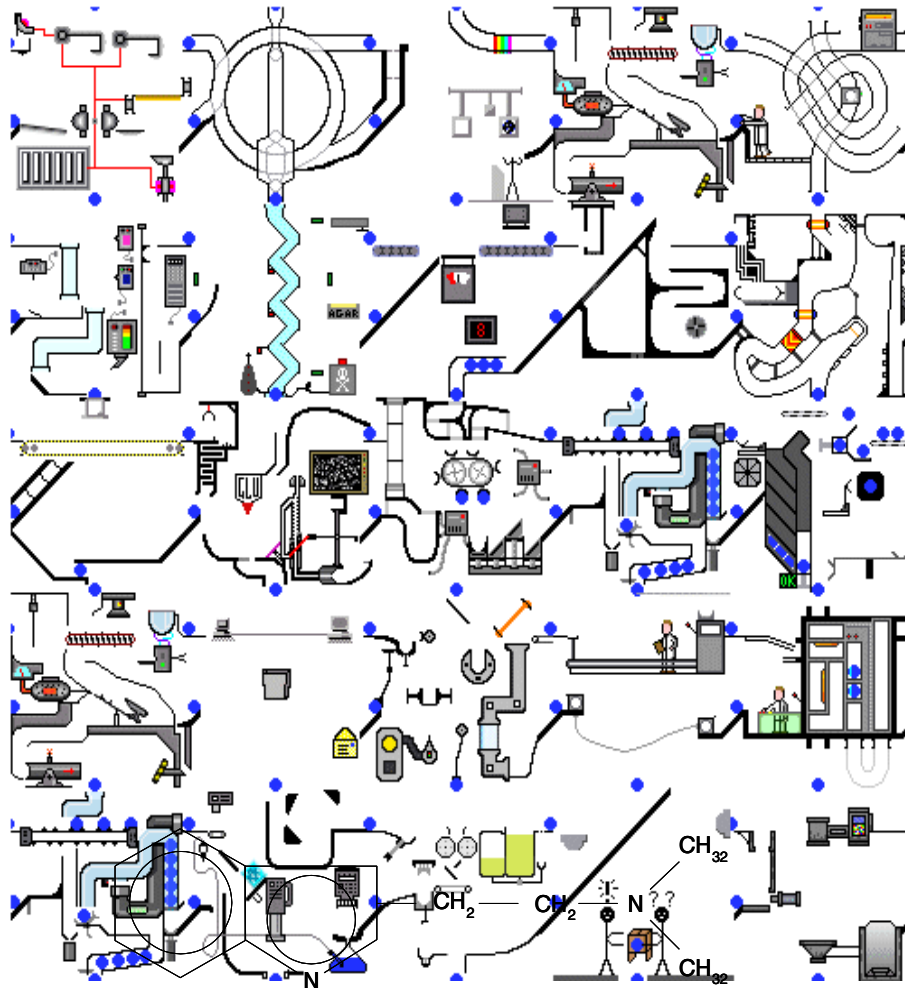
⇒ **Zunehmende Zahl an Messparametern/Biomarkern**
- ist das realistisch ?

... und selbst mit einer breiten Palette von Markern: das Strassenlicht-Symptom bleibt !



Können „Ergebnis-offene“ Methoden das Dilemma lösen? -omics-Ansätze

Stressoren

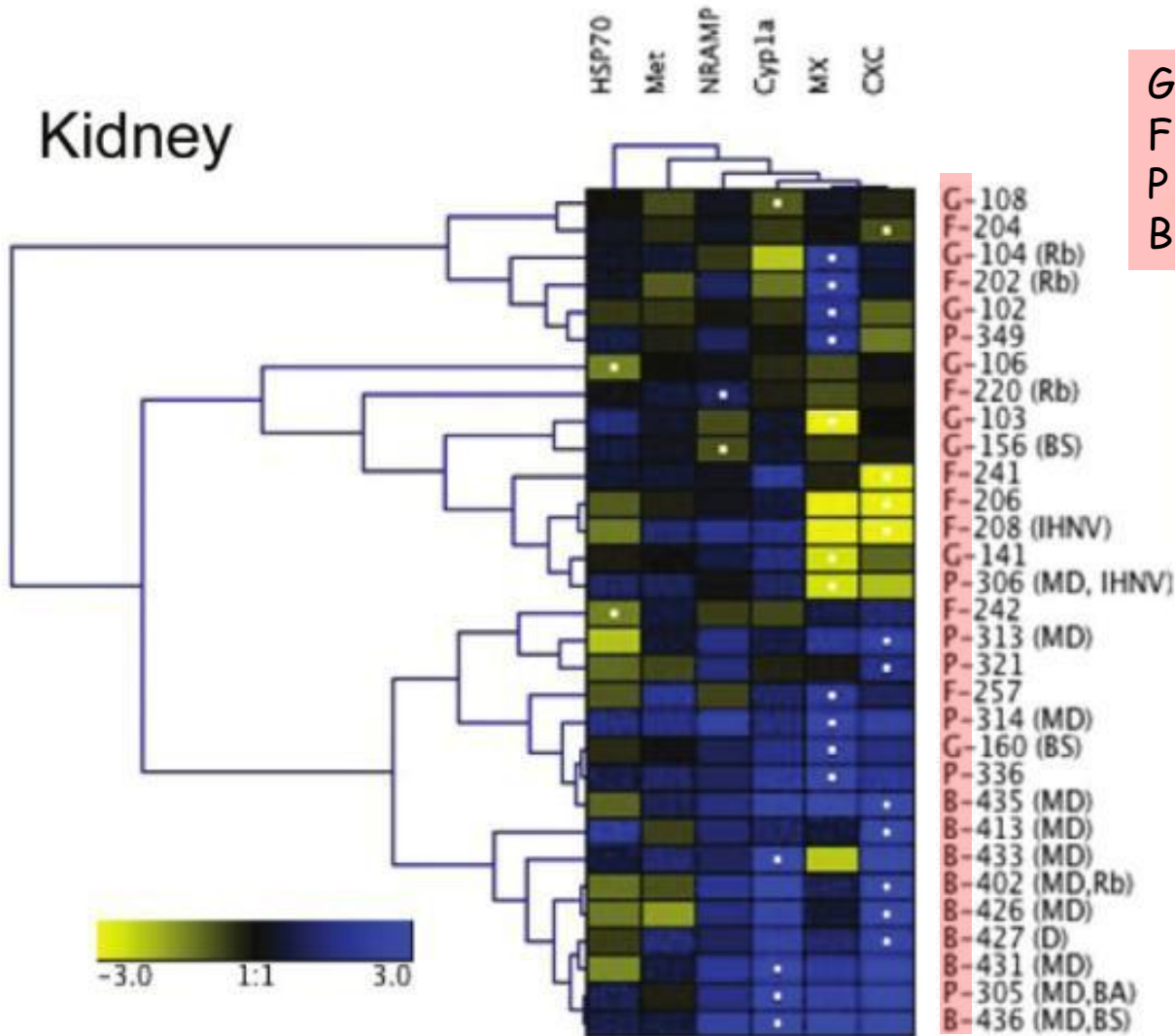


Halten -omics- Ansätze das Versprechen der „Breitband“-Detektion?

Spezies, Studie	Induzierte Gene/Wege	Inhibierte Gene/Wege	Referenz
Flunder, belastete Ästuar	Detoxifizierung, Stress-Antwort,	Elongationsfaktoren, Immun-Gene	Williams et al., Aquat Toxicol, 2003
Karpfen, Abwasserbelasteter Fluss	Detoxifizierung, Stress-Antwort, Proteolyse	Kohlenhydratmetabolismus, Steroidmetabolismus, Apolipoproteine	Moens et al., Chemosphere, 2007
Dickkopfritze, Abwasserbelasteter Fluss	Vitellogenin, Östrogenrezeptor, CYP1A, Immun-Gene	Wachstumsfaktoren, Thyroidrezeptor, Immungene	Filby et al., Environ Sci Technol, 2007

⇒ Nur bedingt Stoff-spezifische Antworten, vielmehr Antwortmuster, die eine allgemeine **Stress**-Situation anzeigen

Die Stärke der -omics Ansätze scheint in der Separierung „belastet-unbelastet“ zu liegen

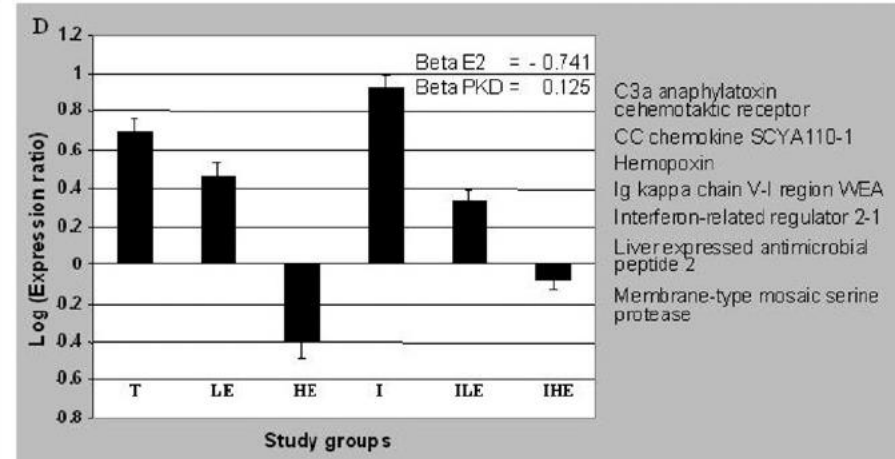
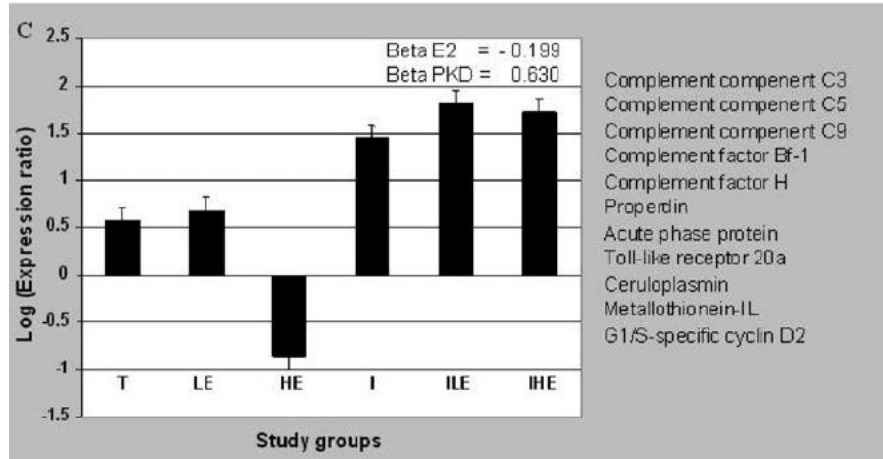
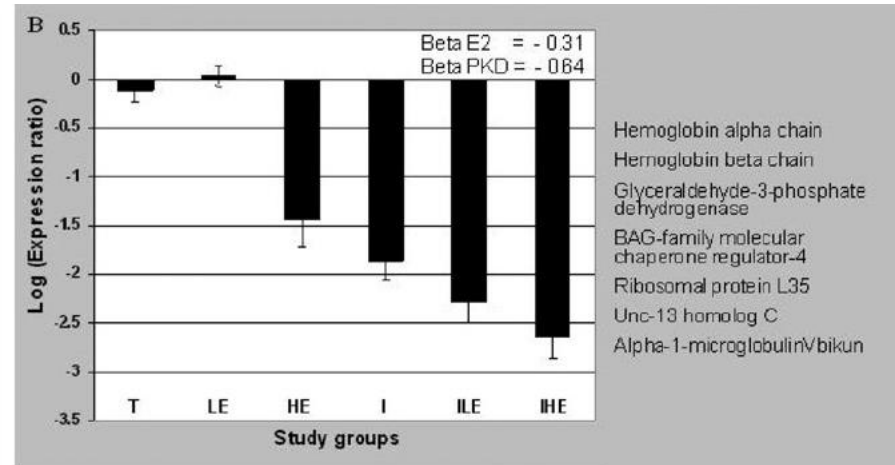
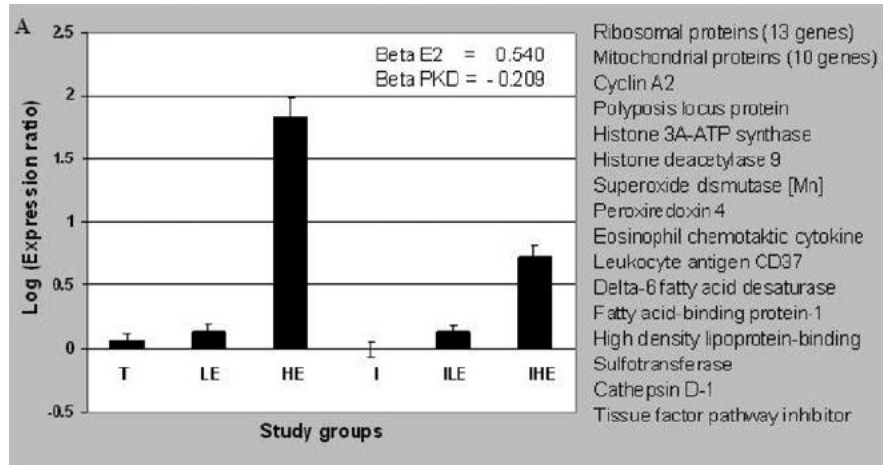


G = fish of good health status
 F = fish of fair health status
 P = fish of poor health status
 B = fish of bad health status

⇒ nicht primär MoA-spezifische Ziel-Gene, sondern allgemeine Stress-Indikatoren

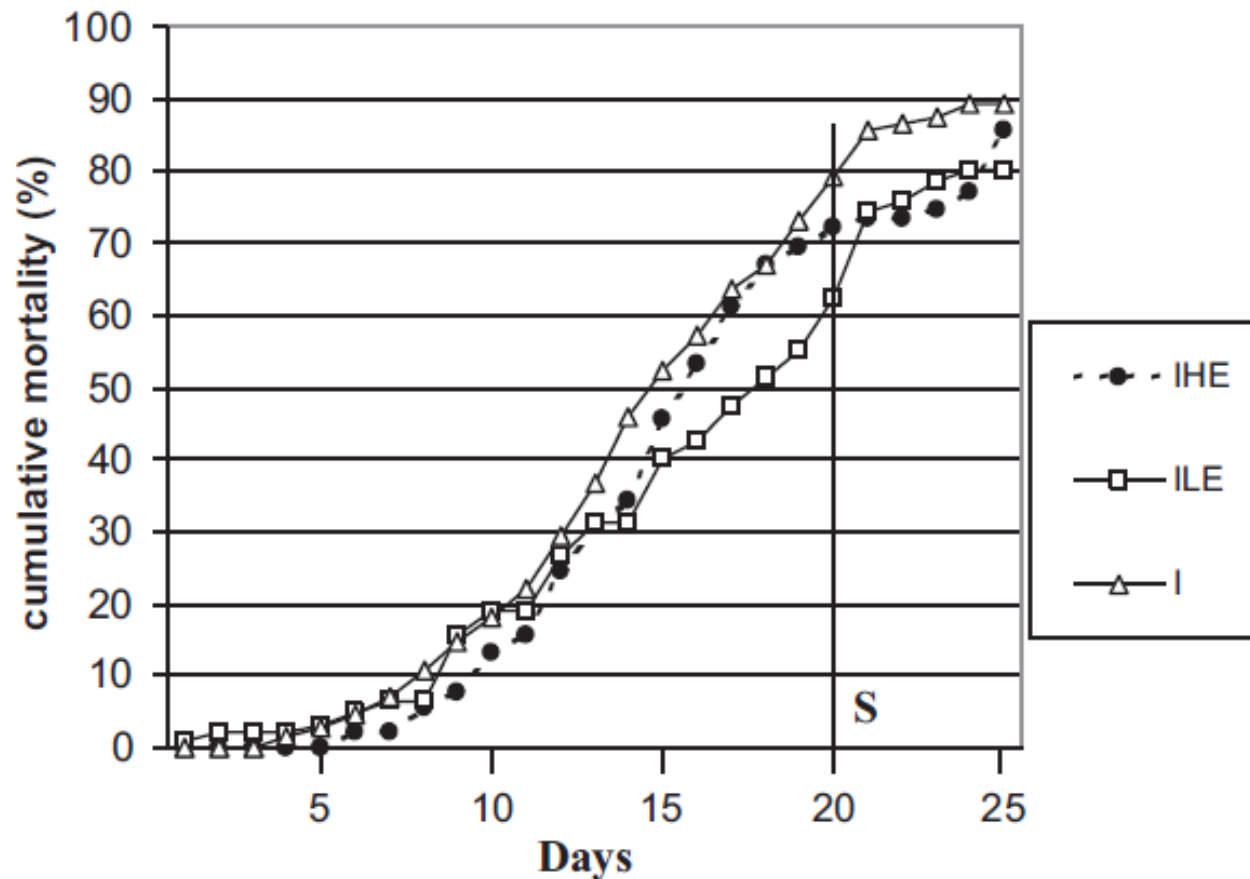
Sensitivität von Spurenstoff-induzierbaren Markern: wie sensitiv soll's denn sein?

Exposition von Forellen an eine Kombination aus Umweltöstrogenen und Pathogenen (ILE, IHE) induzierte eine Vielzahl von Genen.....



Sensitivität von Spurenstoff-induzierbaren Markern: wie sensitiv soll's denn sein?

... ohne dass sich dies in Effekten auf der Organismusebene (hier: Mortalität) niederschlägt (die «so what»-Frage)



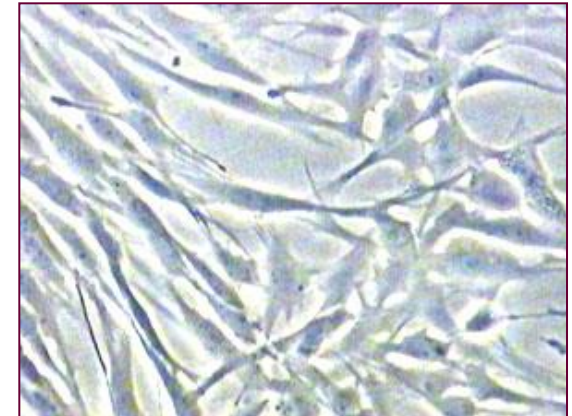
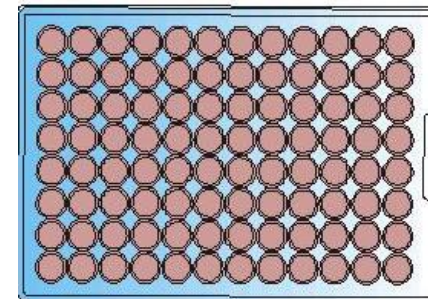
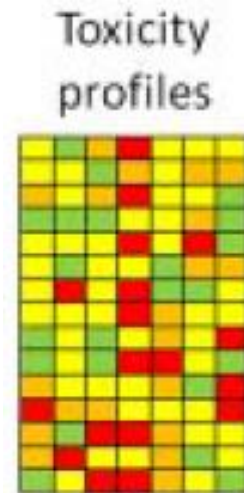
Spürnasen-Funktion von Fischen: nicht der Einzelparameter ist entscheidend, sondern die Integration



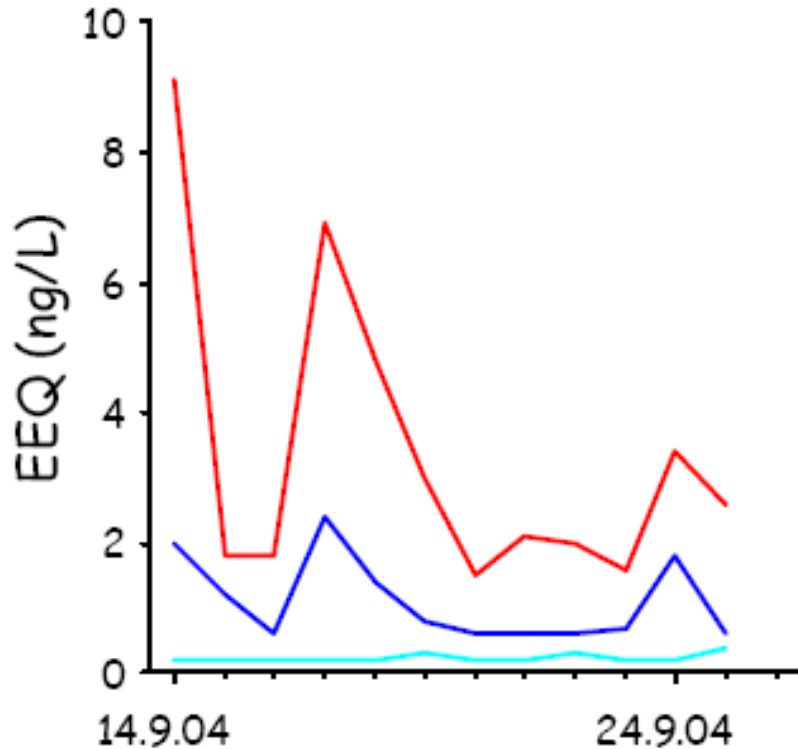
Fisch als **spezifische** Spürnase:
Messung des **MoA**-spezifischen
Biomarkers Vitellogenin im
Fisch (Beispiel)

Warum Vitellogenin?

- Chemisch-analytische Daten weisen auf östrogene Belastung hin
- Bioanalytische Daten (in vitro Bioassays) weisen auf östrogene Belastung hin

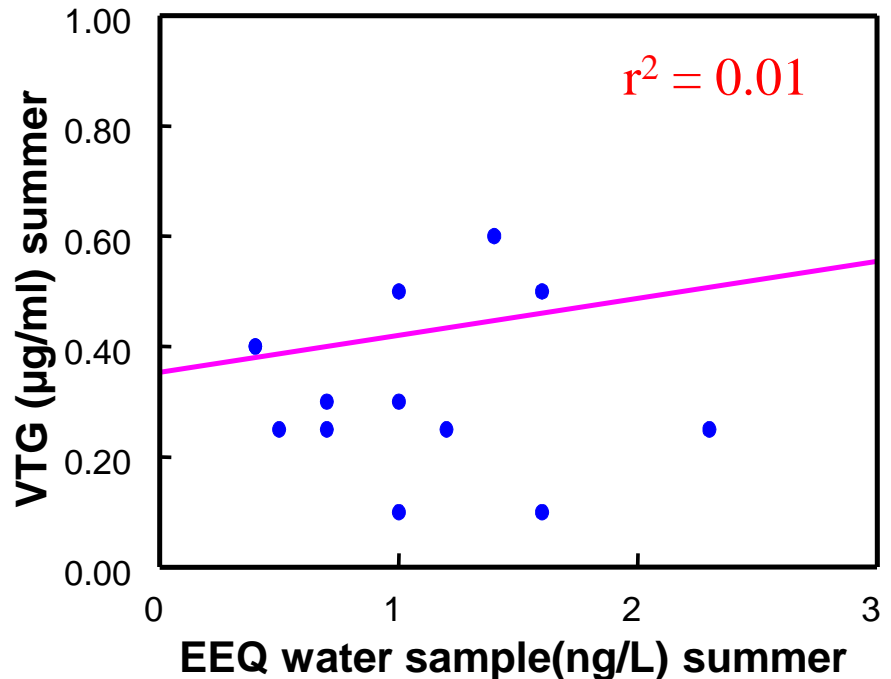


Die Beziehung zwischen Bioassay-Antwort und Fischantwort muss nicht linear sein

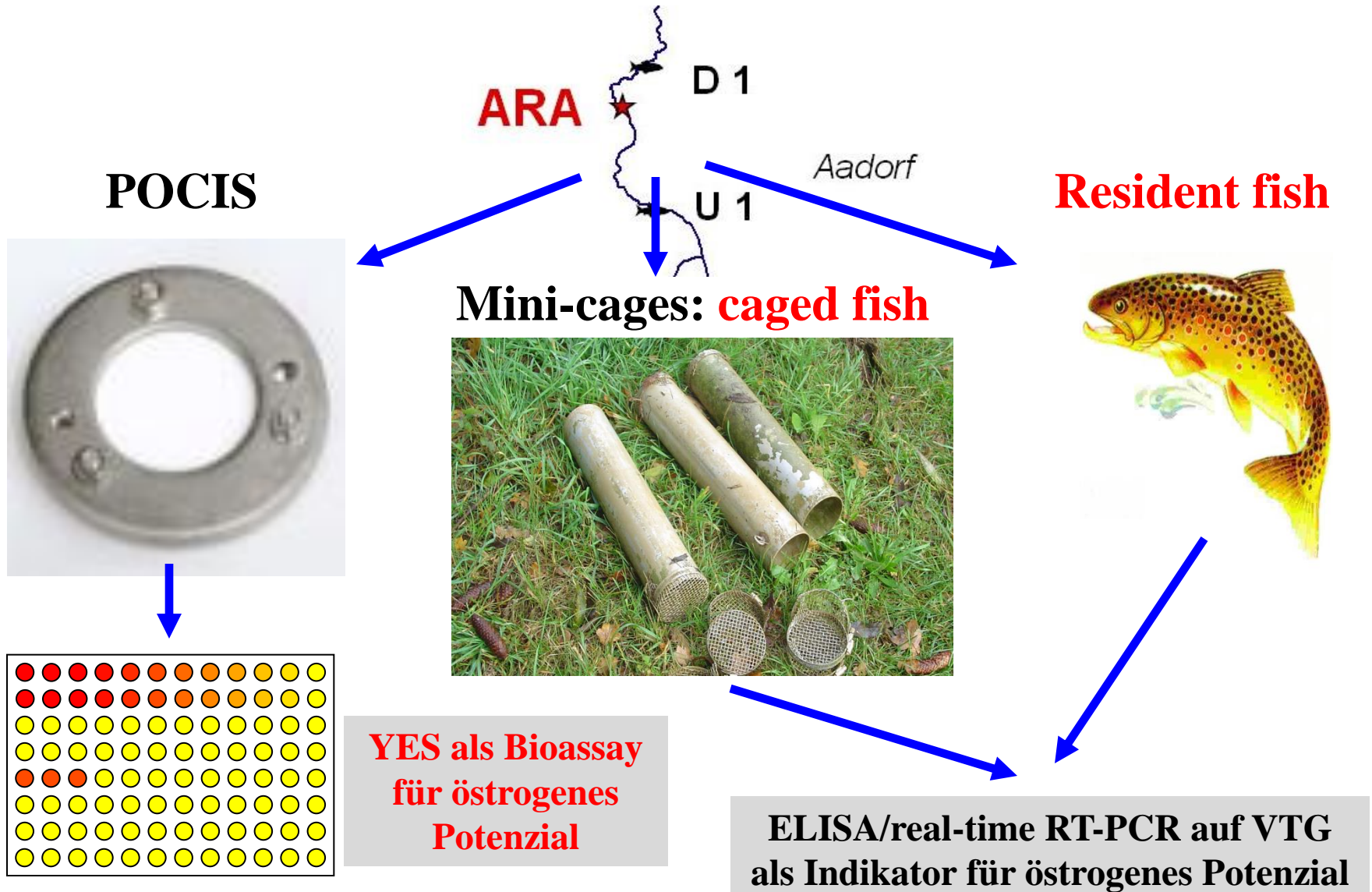


Zeitliche Schwankung der östrogenen Belastung bringt variable Ergebnisse im Bioassay, dagegen ist die Vitellogenin-Antwort im Fisch zeitintegriert

Beispiel: Östrogen-Äquivalente (EEQ) aus in vitro Yeast Estrogen Assay (YES) versus vltellogenin (VTG) im Fisch



Verbesserte zeitliche Integration durch Passivsammler



Spürnasen-Funktion von Fischen: nicht der Einzelparameter ist entscheidend, sondern die Integration



Fisch als Spürnase: Kopplung des Biomarkers mit **MoA**-bezogenen organismischen Parametern beantwortet die «so what»-Frage

Die Messung von Reproduktionsparametern ist im Freiland nur bedingt möglich
⇒ Extrapolation von Labor-„Modell“-Spezies auf Nicht-Modell-Spezies im Feld



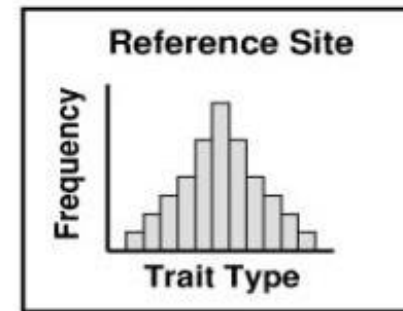
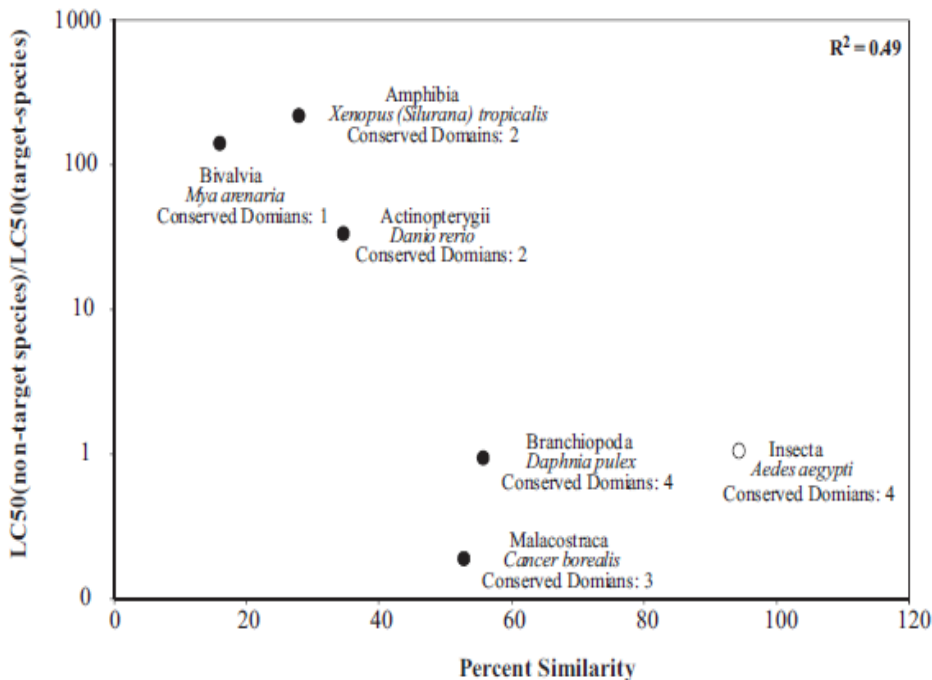
Die spezifischen MoA von Spurenstoffen bedingen deutliche Spezies-Unterschiede in der Sensitivität

		Interspezies-Sensitivitäts-Verhältnis
Narkotika (Verhaar MoA-Klasse 1)		
	1,2,4-Trichlorbenzol	1.17
	Trichlor-Aethylen	1.75
	Tert. Butyl-Methylaether	1.43
Spezifische MoA (Verhaar MoA-Klasse 4)		
	Cypermethrin	29.3
	EE2	6.8
	Ketoconazol	9.8
	Fluoxetin	5.8

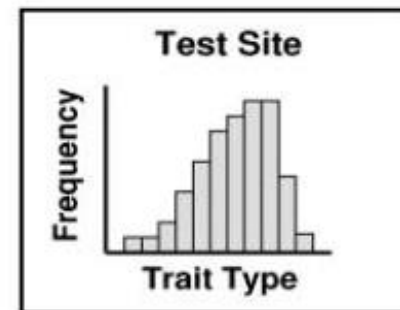
Spezies-Extrapolation hängt ab von den physiologischen und ökologischen Eigenschaften („traits“)

Physiologische „Traits“: Molekulare Ähnlichkeit eines MoA—spezifischen Ziel-Gens zwischen Arten korreliert mit ähnlicher Sensitivität gegenüber mit dieser MoA

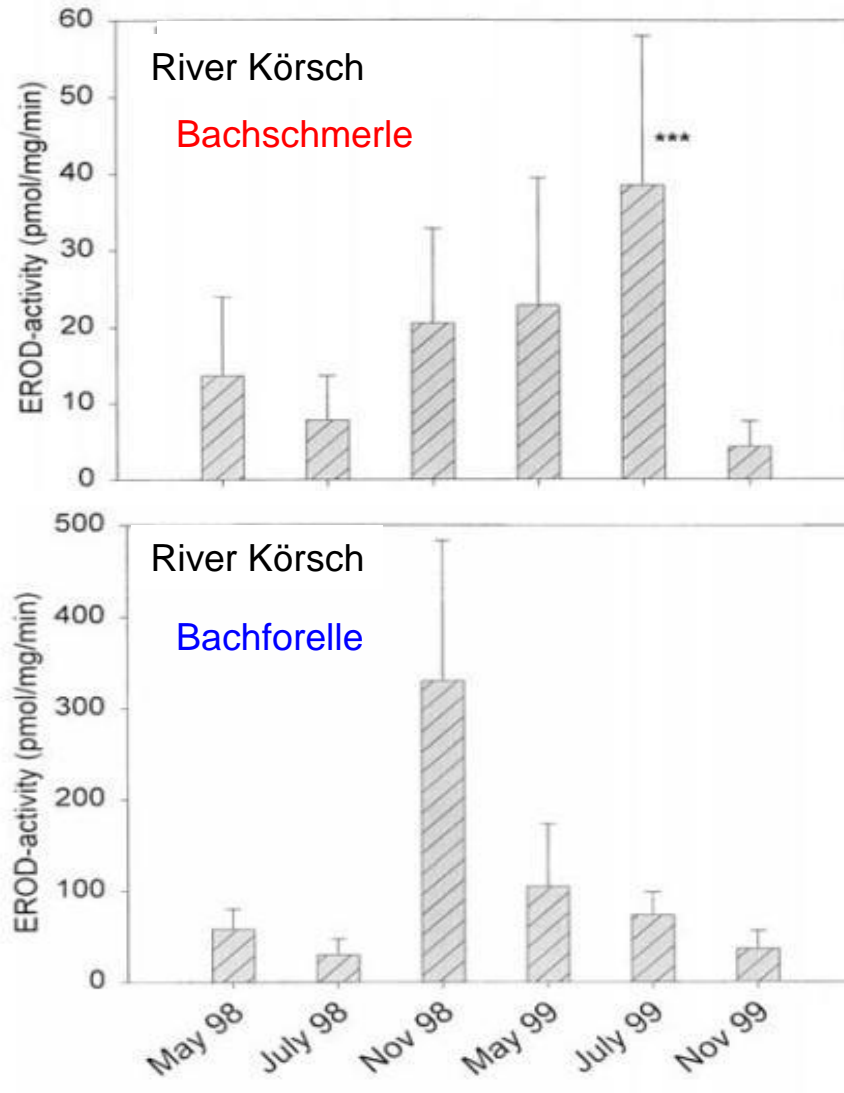
Ökologische „Traits“: Arten zeigen auf Grund ihrer ökologischen Eigenschaften (Exposition, life history, etc.) unterschiedliche Sensitivitäten gegenüber MoA



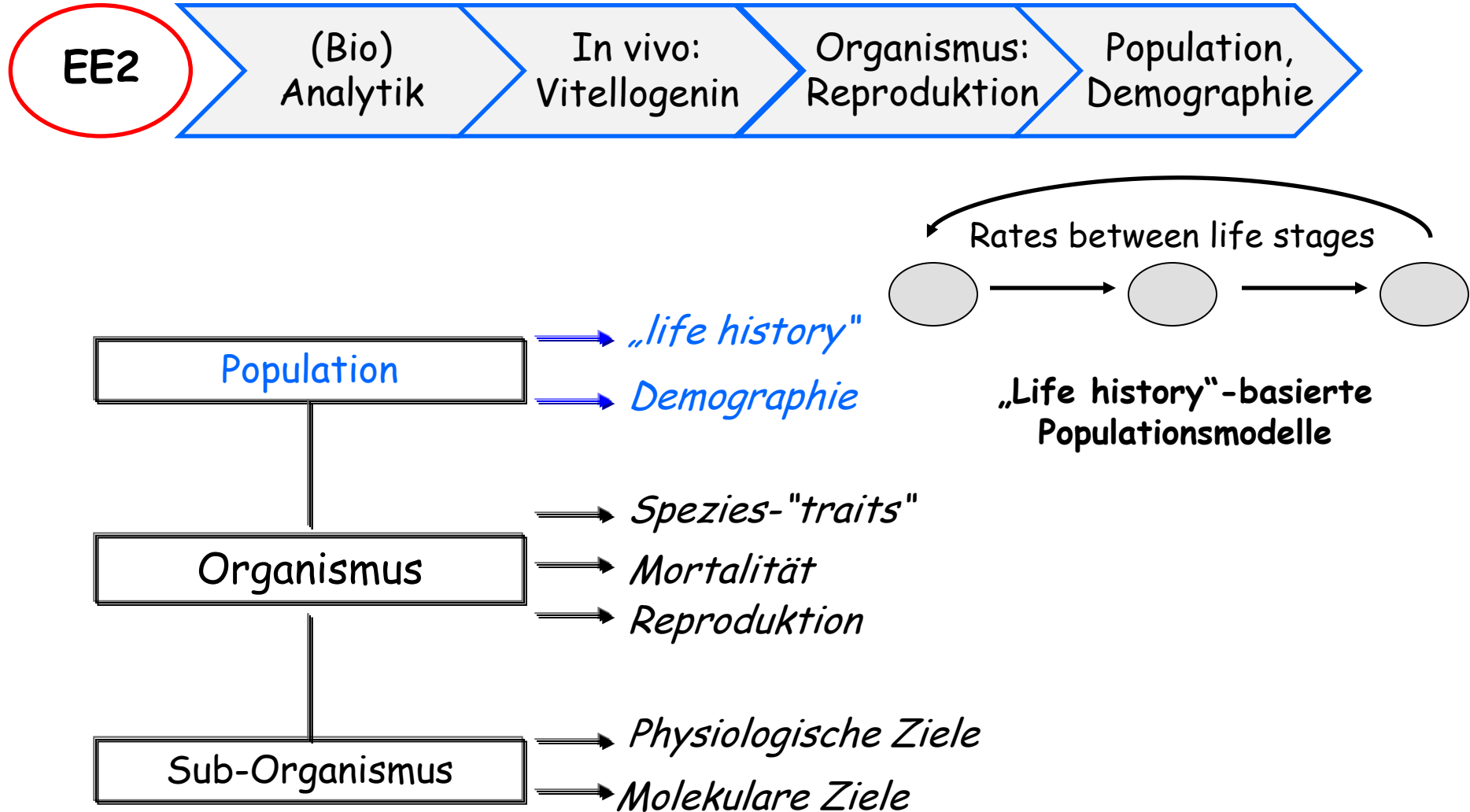
Spurenstoff mit spezifischem MoA



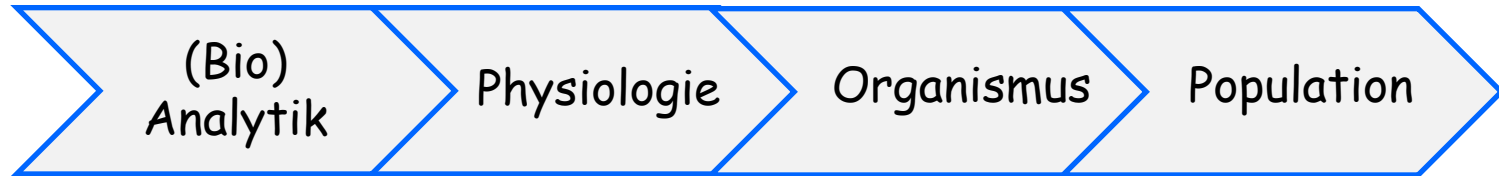
Spezies-Unterschiede in den „traits“ beeinflussen die Reaktion gegenüber Spurenstoffen



Spürnasen-Funktion von Fischen: nicht der Einzelparameter ist entscheidend, sondern die Integration

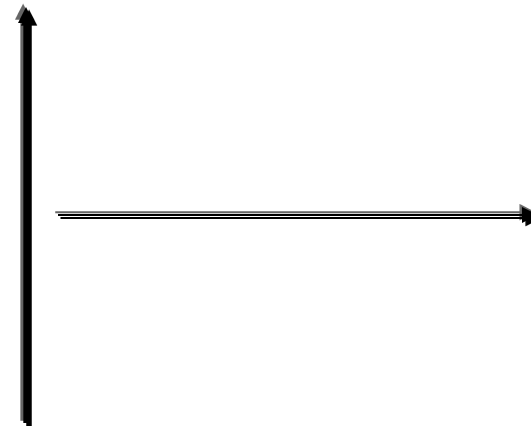


Spürnasen-Funktion von Fischen: die Bedeutung der Wirkweisen MoA



DETEKTION

BEWERTUNG



Extrapolation von der diagnostischen Detektion zur Bewertung auf Grund von **MoA**-basiertem Wissen zu Propagationsprozessen

Auswahl geeigneter Monitoring-Parameter auf Grund von a priori-Wissen zu **MoA**