

Badania epidemiologiczne wyraźnie wskazują na powiązanie pomiędzy problemami z uzyskaniem potomstwa małżeńskich w środowisku zanieczyszczonym w stosunku do tych, które mieszkają w środowisku nieskażonym. Dodatkowo rozpowszechnienie zainteresowania związane jest z badaniami przeprowadzonymi na populacji ludzi narażonych na wpływ ksenobiotyków w miejscu pracy i wskazują one na to, że substancje chemiczne obecne w środowisku i okolicy, jako "endocrine disruptors" mogą być przyczyną zaburzenia cykli menstruacyjnych, problemami z zapłodnieniem i utrzymaniem ciąży. Zaburzenie funkcji endogennych hormonów jest jednym z możliwych mechanizmów działania ksenobiotyków. Innym możliwym jest zaburzenie procesów apoptozy. Indukcja apoptozy przez ED prowadzi do śmierci pcherzyków i w konsekwencji zahamowania procesów steroidogenezy i obumarcia oocyta. Niepłodność o niezidentyfikowanej przyczynie może być wynikiem zwiększonej akumulacji ksenobiotyków w surowicy krwi i płynie pcherzykowym, zaburzenie procesu detoksykacji i w konsekwencji również w ekspresji receptorów steroidowych oraz AhR a także również w odpowiedzi komórek na stymulację gonadotropinami.

W dostępnym literaturze doniesienia wskazują na znaczne koncentracje wielopierścieniowymi w gwałodorami aromatycznymi (WWA) w krwi p powinowej i krwi matek. Głównym źródłem zanieczyszczenia środowiska WWA są pojazdy mechaniczne, zwłaszcza samochody z silnikami wysokoprężnymi. Kolejnym źródłem WWA jest dym tytoniowy, który oprócz benzo(a)pirenu (B(a)P), najczęściej badanego WWA, zawiera szereg wielu innych związków. Biorąc pod uwagę ich trwałość w środowisku i toksyczność, 16 związków: naftalen, acenatren, fluore, antracene, fluoranten, piren, benzo(a)/antracene, chryzen, benzo(a)/antracene, chryzen, benzo(a)/fluoranten, benzo(k)/fluoranten, benzo(a)/piren, indeno(1,2,3-cd)piren., dibenzo(a,h)/antracene, benzo(g,h,i)/perylene, zostało określonych, jako priorytetowe zarówno przez Agencję Ochrony Środowiska USA jak i Komisję Europejską.

Przeprowadzone badania dotyczą głównie kancerogennego działania benzo(a)pirenu, jakkolwiek oprócz udowodnionych w przypadku benzo(a)pirenu właściwości kancerogennych, wykazano, że WWA wykazują działania anty-estrogenne, androgenne i anty-estrogenne. Wstępne badania przeprowadzone przez nasz zespół w Polsce w latach 2012-2014 wskazują na wysoki poziom naftalenu, fenantren, antracenu, fluorantenu i pirenu zarówno w krwi matek i jak i krwi płodu wskazując na prawie 100% transfer przez łożysko. Narażenie w czasie na mieszaniny WWA zarówno podczas życia płodowego jak i w okresie postnatalnym może przyczyniać się do zaburzenia funkcji jajnika. Nasze wstępne badania wykazały wysoki poziom naftalenu, fenantren, antracenu, fluorantenu i pirenu zarówno w krwi matki i krwi p powinowej. Ponadto te wstępne dane wykazały wysoki procentowy rozkład fluorantenu i pirenu i benzo(a)antracenu w krwi p powinowej niż w krwi matki. Wskazuje to na ekspozycje nie tylko w życiu dorosłym, ale także w życiu płodowym.

Większość informacji o wpływie zanieczyszczeń środowiskowych na zdrowie człowieka pochodzi z badań na zwierzętach eksponowanych na pojedyncze związki chemiczne. Ludzie narażeni są na ekspozycje nie jednego czynnika, ale wielu występujących w pokarmie, wodzie, powietrzu czy lekach. Opublikowane przez nas badania wiadczy o różnicach w działaniu pojedynczych związków toksycznych (najczęściej badanych) i mieszanin naturalnie występujących w środowisku na funkcje endokryne komórek pcherzyka jajnikowego: np. mieszaniny nisko i wysoko chlorowanych polichlorowanych dwufenyli (PCBs), mieszaniny PCBs i pestycydów, polibromowanych dibenzoeterów (PBDEs) i pestycydów a także mieszaniny polichlorowanych naftalenów.

Celem projektu będzie określenie bezpośredniego wpływu mieszanin WWA na aktywację receptorów w gwałodorów aromatycznych (AhR) będącego mediatorem efektów toksycznego działania WWA, ale także spełniającym rolę w procesach fizjologicznych i wykazanie czy ekspozycja na mieszaniny WWA może być odpowiedzialna za indukację atrezji pcherzyków i zaburzenia steroidogenezy. Receptor AhR pod względem budowy i działania wykazuje bardzo duże podobieństwo do receptora hormonów sterydowych. Po utworzeniu kompleksu WWA-AhR/ARNT dochodzi do wiązania z DNA i indukacji transkrypcji CYP1A1, enzymów odpowiedzialnych za detoksykację. Istnieje także możliwość utworzenia kompleksu WWA-AhR/AhRR i zahamowania transkrypcji genów odpowiedzialnych za detoksykację, apoptoz i steroidogenezy komórek jajnikowych.

Planujemy zastosowanie linii komórek granulocyty ludzkiej hGrC1. Jest to linia niezłuteinizowanych komórek granulocyty, dobry model do badania czynników wpływających na folikulogenezę. Do badań w tym zakresie będzie 4 różne mieszaniny biorąc pod uwagę ich zawartość w krwi matki i krwi p powinowej. W skład mieszaniny 1 i 2 będzie wchodziły wszystkie 16 związków w ilościach występujących w krwi matki i płodu. W skład mieszaniny 3 i 4 wchodzić będą naftalen, fenantren, fluoranten, antracene, piren i benzo(a)piren występujące w większej ilości w krwi płodu niż w krwi matki.

W pierwszym etapie planujemy określić wpływ mieszanin na ekspresję genu i białka receptorów w gwałodorów aromatycznych (AhR) i translokatora jądrowego receptora AhR (ARNT) oraz represora jądrowego receptora AhR (AhRR). Następnie stosując wyciszenie genu dla ARNT lub AhRR określimy wpływ mieszanin na aktywację enzymów detoksykacyjnych I i II fazy metabolizmu (CYP1A1 i katecholo-O-metylotransferazy; COMT). W kolejnym etapie stosując wyciszenie genu dla ARNT lub AhRR określimy wpływ na apoptozę poprzez określenie aktywności i ekspresji caspazy-3 jako enzymu wykonawczego. W ostatnim etapie stosując wyciszenie genu dla ARNT lub AhRR określimy wpływ mieszanin na podstawową i stymulowaną FSH sekrecję estradiolu i ekspresję aromazy.

Będzie to pierwsze tego typu szeroko przeprowadzone badanie dotyczące skutków narażenia na mieszaniny WWA zgromadzonych w dużej ilości w krwi matki i p powinowej na funkcję komórek pcherzyka jajnikowego i wskazanie nowego molekularnego mechanizmu działania.