

Plastic-(nie)fantastic? Wpływ bisfenolu A i jego analogów na homeostazę jonów wapnia w oocytach ssaków

Bisfenol A (BPA) jest związkiem organicznym należącym do grupy fenoli, mającym szerokie zastosowanie w produkcji żywic, poliwęglanów i tworzyw sztucznych. Ze względu na swoją transparentność, lekkość oraz odporność na uszkodzenia stosowany jest do produkcji wielu przedmiotów codziennego użytku, np. plastikowych pojemników do przechowywania żywności, zabawek dla dzieci, płyt CD i DVD, metalowych puszek (powleka ich wewnętrzną powierzchnię), papieru do drukowania paragonów, kosmetyków, wypełnień dentystycznych. Masowa produkcja tego związku przyczyniła się do jego rozprzestrzenienia w środowisku. BPA może uwalniać się z plastiku pod wpływem zmian pH i temperatury i migrować do żywności, powietrza, skóry, śliny czy krwi. **Niestety BPA jest tzw. ksenoestrogenem, czyli związkiem syntetycznym o działaniu podobnym do estrogenu. BPA może zatem zakłócać funkcjonowanie organizmów zwierząt i ludzi, w tym negatywnie wpływać na ich płodność.** Wcześniejsze badania wykazały, że BPA rzeczywiście obniża jakość komórek jajowych i plemników.

Główne pytanie, na jakie chcemy odpowiedzieć w niniejszym projekcie, to czy BPA, czynnik wszechobecny w naszym środowisku, wpływa na zdolność komórek jajowych myszy do generowania oscylacji cytoplazmatycznego stężenia jonów wapnia w odpowiedzi na zapłodnienie, a przez to – czy obniża płodność samic. Oscylacje stężenia jonów wapnia są niezwykle ważne, ponieważ wyzwalają w zapłodnionej komórce jajowej szereg procesów warunkujących jej prawidłową przemianę w zarodek: pozwalają na ukończenie podziału mejotycznego i zapoczątkowanie podziałów mitotycznych zarodka, inicjują powstanie bloku przeciwko polispermii, regulują funkcjonowanie mitochondriów w czasie zapłodnienia i ekspresję genów w zarodku. **Sprawdzimy więc także, czy wywołane przez BPA zmiany we wzorze oscylacji jonów wapnia korelują z obniżonymi zdolnościami rozwojowymi zarodków. Następnie zbadamy, jaki jest mechanizm poprzez który BPA oddziałuje na komórki jajowe.** W tej części doświadczeń skupimy się przede wszystkim na oddziaływaniu BPA z receptorami estrogenowymi obecnymi w komórkach jajowych, ścieżką wewnątrzkomórkowego przekazywania sygnału zależną od kinaz ERK/MAPK oraz na wpływie BPA na ilość wolnych rodników tlenowych zgromadzonych w komórce jajowej i aktywność mitochondriów. **Sprawdzimy też, czy podatność komórek jajowych na BPA zależy od wieku samicy. W ostatniej części naszych doświadczeń przyjrzymy się wpływowi analogów BPA – bisfenolu S i F (BPS i BPF) – na zdolność komórek jajowych do generowania oscylacji stężenia jonów wapnia w odpowiedzi na plemnik.** Wraz ze wzrostem świadomości społecznej co do potencjalnej szkodliwości BPA, zaczęto zastępować ten związek w produkcji plastiku przez inne substancje, w tym właśnie BPS i BPF. Niestety, one także są ksenoestrogenami. Ich wpływ na funkcjonowanie organizmów ludzkich i zwierzęcych jest jednak słabo poznany, przez co ich stosowanie jest potencjalnie bardziej ryzykowne.

W naszych badaniach wykorzystamy **komórki jajowe myszy**, gdyż zwierzę to jest sprawdzonym modelem w badaniach dotyczący biologii rozwoju i rozrodu ssaków. BPA oraz jego analogi będą podawane w czasie dojrzewania komórek jajowych, bądź to w warunkach *in vitro* (jako dodatek do pożywki hodowlanej), bądź *in vivo* (podawane doustnie myszom). Skupimy się przede wszystkim na stężeniach badanych związków zbliżonych do tych wykrywanych w płynie z pęcherzyków jajnikowych (doświadczenia w układzie *in vitro*) i do tych będących średnią dawką dzienną związku przyjmowana przez człowieka (w przeliczeniu na masę ciała; doświadczenia w układzie *in vivo*). W doświadczeniach wykorzystamy szerokie spektrum technik biologii molekularnej i komórkowej.

Spodziewamy się, że nasze badania wykażą, czy – a jeśli tak, to w jaki sposób – BPA oddziałuje na zdolność zapłodnionych komórek jajowych do generowania oscylacji stężenia jonów wapnia. Nasze badania wstępne wskazują, że BPA podawany w czasie dojrzewania komórek jajowych *in vitro* w ilości wykrywanej w płynie z pęcherzyków jajnikowych (czyli ilości, która otaczałaby komórkę jajową w fizjologicznych warunkach) powoduje skrócenie czasu trwania oscylacji i zwiększenie ich częstości. Może to potencjalnie wpływać na jakość powstałych w ten sposób zarodków. Co więcej, uzyskane przez nas wyniki sugerują, że w działanie BPA zaangażowany jest receptor estrogenowy GPR30 oraz ścieżka sygnałowa kinazy ERK/MAPK. Chcemy poznać ten mechanizm lepiej i sprawdzić, czy nie uczestniczą w nim inne receptory i szlaki sygnałowe. Nasze dotychczasowe dane wskazują też, że komórki jajowe pochodzące od samic w zaawansowanym wieku słabiej reagują na BPA niż komórki jajowe z samic młodych, planujemy zatem odkryć przyczynę tej różnicy. W końcu, mamy nadzieję ustalić, czy BPS i BPF wpływają na zdolność zapłodnionych komórek jajowych do generowania oscylacji wapniowych i wykorzystać te dane jako wyniki wstępne przy sporządzaniu kolejnych wniosków grantowych. **Podsumowując, uważamy, że badania zaplanowane w niniejszym projekcie rzucają nowe światło na oddziaływanie BPA i jego analogów na komórki jajowe, a co za tym idzie, na płodność żeńską.**