



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-18-0150

Potenciálne riziko používania analógov endokrinného disruptoru Bisfenolu A: hodnotenie účinkov na bunkovej a molekulovej úrovni v spektre in vitro gonadálnych bunkových kultúr

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Alžbeta Bujňáková Mlynarčíková, PhD.**

Príjemca **Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. - Ústav experimentálnej endokrinológie**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. - Ústav experimentálnej endokrinológie
2. Univerzita Komenského v Bratislave - Lekárska fakulta (odstúpenie v r. 2020)

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Do riešenia projektu nebolo zapojené zahraničné pracovisko.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Patentové prihlášky a pod. neboli podané.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

- 1) Bujnakova Mlynarcikova A., Scsukova S. Bisphenol analogs AF and S: Effects on cell status and production of angiogenesis-related factors by COV434 human granulosa cell line. Toxicology and Applied Pharmacology, 2021, vol. 426, art. no. 115634 (IF 4,219). Citácie: 6. doi: 10.1016/j.taap.2021.115634
- 2) Bujnakova Mlynarcikova A., Scsukova S. Bisphenol analogs AF, S and F: Effects on functional characteristics of porcine granulosa cells. Reproductive Toxicology, 2021, vol. 103, p. 18-27 (IF 3,143). Citácie: 8. doi: 10.1016/j.reprotox.2021.05.004
- 3) Bujnakova Mlynarcikova A., Scsukova S. Effect of selected bisphenol derivatives on nuclear receptor expression in ovarian cell line COV434. Endocrine Regulations, vol. 54, no. 4, p. 275-283, 2020. Citácia: 1. doi: 10.2478/enr-2020-0031
- 4) Bujnakova Mlynarcikova A., Scsukova S. The Role of the Environment in Hormone-Related Cancers. In: Environmental Endocrinology and Endocrine Disruptors: Endocrine and Endocrine-targeted Actions and Related Human Diseases. - Switzerland AG: Springer Nature, 2022, s. ISSN 2510-1927.
https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-030-39044-0_17

Uplatnenie výsledkov projektu

Bisfenolové analógy sa čoraz viac používajú v priemysle ako náhrady inštitucionálne limitovaného plastifikátora BPA, čím sa intenzívne dostávajú do kontaktu s ľudským organizmom. Výsledky získané v projekte na modeloch primárnych aj nádorových buniek odvodených zo samičieho i samčieho reprodukčného traktu poukazujú na parametre citlivo na expozíciu týmito látkami, vrátane ich životaschopnosti, proliferácie, oxidačného stresu, tvorby steroidných hormónov a génovej expresie. Tieto výsledky z doteraz málo prebádanej oblasti biologického účinku bisfenolov a údaje o rozsahu ich toxicity získané v rámci riešenia projektu potvrdzujú hypotézu o ich endokrinne disruptívnom potenciáli podobnom prototypovému BPA. Zároveň sú významným príspevkom k akademickým zisteniam z iných oblastí, spolu s ktorými v konečnom dôsledku upozorňujú, že alternatívne bisfenoly nie sú inertné s ohľadom na množstvo biologických a patogenetických procesov v ľudskom organizme, preto by mali byť ďalej skúmané, kontrolované a hodnotené ako látky potenciálne rizikové pre ľudské zdravie.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Ciele stanovené v projekte mali na základe experimentov na špecifických in vitro modeloch gonadálnych bunkových kultúr priniesť údaje o účinkoch bisfenolových analógov BPAF, BPS, BPF, BPB, na spektrum bunkových procesov, identifikovať citlivé parametre a objasniť mechanizmy účinku bisfenolov v sledovaných procesoch, a na základe získaných údajov indikovať riziká, či naopak prispieť k potvrdeniu bezpečnosti používania týchto analógov ako priemyselných náhrad bisfenolu A. Vzhľadom k výraznému nedostatku poznatkov o vplyve bisfenolov na reprodukčný systém projekt vďaka získaným výsledkom priniesol súbor cenných nových údajov o pôsobení analógov BPA na fyziologické charakteristiky primárnych zárodočných i somatických buniek ovárií, ako aj patogenetické charakteristiky buniek ovariálnych nádorov epiteliálneho i granulózného pôvodu, a hormón-responzívnych i neresponzívnych nádorov prostaty a testes.

Na základe vykonaných analýz sme identifikovali škálu bunkových, biochemických a molekulárnych parametrov citlivých na pôsobenie bisfenolov. Študované bisfenoly ovplyvnili proliferáciu buniek, bunkovú viabilitu, integritu plazmatickej membrány, energetický metabolizmus buniek. Vo vysokých koncentráciách indukovali apoptózu aktiváciou kaspáz a indukciou tvorby reaktívnych foriem kyslíka. Bisfenoly tiež inhibovali produkciu steroidných hormónov (estradiol, progesterón) a meiotické zrenie zárodočných buniek v primárnych vzorkách izolovaných z ovárií. Cieľovými faktormi účinku bisfenolov boli aj expresia a sekrécia proangiogénnych faktorov, komponentov extracelulárneho matrixu a zápalových markerov. Zistilo sa tiež ovplyvnenie expresie génov zapojených do onkogénnej signalizácie, bunkového cyklu, a chemorezistencie gonadálnych nádorových buniek.

Výsledky indikujú, že cieľové procesy sa u rôznych bisfenolových derivátov líšia v závislosti od typu buniek, koncentrácie a času pôsobenia, pričom účinky vysokých koncentrácií niektorých analógov (BPAF a BPB) sú výraznejšie ako účinky samotného BPA.

V projekte sa sledovalo pôsobenie bisfenolov v koncentračnom rozsahu od biologicky relevantných koncentrácií (1 nmol/l) po experimentálne využívané vyššie koncentrácie (100 µmol/l). Významné disruptívne účinky bisfenolov na študované bunkové a molekulové procesy sme pozorovali prevažne pri suprafyziologických dávkach (1-100 µmol/l), ktoré výrazne presahujú koncentrácie týchto látok namerané v prostredí a ľudských vzorkách. Tieto pozorovania by mohli viesť k predpokladu, že k podobným účinkom by v ľudskom organizme za bežných podmienok expozície nemalo dochádzať, zároveň však výsledky dokazujú, že bisfenolové analógy testované v projekte, najmä BPAF a BPB, a v menšej miere BPS a BPF, majú schopnosť interferovať s biologickými systémami, čo nie je žiaduce pre chemické prímеси využívané v produktoch dennej spotreby.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

The goals established in the project were to provide data on the effects of bisphenol analogs BPAF, BPS, BPF, BPB, on the spectrum of cellular processes, to identify sensitive parameters and clarify the mechanisms of bisphenol actions in the studied processes.

Based on the experiments on specific in vitro models of gonadal cell cultures, the obtained data should indicate the risks or, on the contrary, contribute to the confirmation of the safety of the use of these analogs as industrial substitutes for Bisphenol A. Due to the significant

lack of knowledge about the impact of bisphenols on the reproductive system, the results obtained in the project bring a set of valuable new data on the effect of BPA analogs on the physiological characteristics of primary germ and somatic cells from the ovaries, as well as the pathogenetic characteristics of cells of ovarian tumors of epithelial and granulosa origin, and hormone-responsive and non-responsive tumors of the prostate and testes.

Based on the analyzes performed, we identified a range of cellular, biochemical and molecular parameters sensitive to the action of bisphenols. The studied bisphenols affected cell proliferation and viability, plasma membrane integrity, and cell energy metabolism. At high concentrations, they induced apoptosis by activating caspases and inducing the formation of reactive oxygen species. Bisphenols also inhibited the production of steroid hormones (estradiol, progesterone) and meiotic maturation of oocytes in primary samples isolated from ovaries. The targets for the effect of bisphenols were also the expression and secretion of proangiogenic factors, components of the extracellular matrix and inflammatory markers. Bisphenols affected the expression of genes involved in oncogenic signaling, cell cycle, and chemoresistance of gonadal tumor cells.

The results indicate that the target processes of different bisphenol derivatives differ depending on the cell type, concentration and time of exposure, with the effects of high concentrations of some analogs (BPAF and BPB) being more pronounced than those of BPA.

The project monitored the action of bisphenols in a concentration range from biologically relevant concentrations (1 nM) to experimentally used higher concentrations (100 μ M). The significant disruptive effects of bisphenols on the studied cellular and molecular processes were observed mainly at supraphysiological doses (1-100 μ M), which significantly exceed the concentrations of these substances measured in the environment and human samples. These observations could lead to the assumption that in the organism under normal conditions of exposure, similar effects should not occur, but at the same time, the results prove that the bisphenol analogs tested in the project, especially BPAF and BPB, and to a lesser extent BPS and BPF, have the ability to interfere with biological systems, which is not desirable for chemical additives used in the everyday-use products.