**Wpływ alkoholu na rozwój zarodkowy**

Z profesor **Mirosławą Cichorek,** embriologiem, kierownikiem Zakładu Embriologii w Katedrze Anatomii, Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego rozmawia **Magdalena Borkowska**

**W jakim stopniu używki ,takie jak alkohol, papierosy mogą wpływać na implantację?**

Alkohol oraz palenie tytoniu wpływają zarówno bezpośrednio na rozwijający się organizm, jak i pośrednio poprzez oddziaływanie na łożysko. W ten sposób ograniczają wewnątrzmaciczny wzrost płodu, przejawiający się wolniejszym wzrostem niektórych kości kończyn i czaszki, a także zmniejszoną wielkością niektórych narządów np. mózgu, nerek, co dokumentują pomiary antropometryczne wykonywane w badaniu ultrasonograficznym lub w analizie obrazów z rezonansu magnetycznego.

Zasadnicze znaczenie dla rozwoju ma prawidłowa implantacja (zagnieżdżenie) rozwijającego się organizmu w ścianie macicy, która jest do tego procesu przygotowywana przez hormony wydzielane przez jajnik po zapłodnieniu. Badania wykazały, że alkohol i tytoń zaburzają wydzielanie hormonów przez jajnik oraz elementy kontrolujące ten proces, tj. przysadkę i podwzgórze [tzw. oś i podwzgórze-przysadka-gonada (jajnik/jądro)]. Alkohol wpływa także na bardzo ważne procesy zachodzące we wczesnym etapie rozwoju (3-4 tydzień), takie jak gastrulacja (tworzenie listków zarodkowych: ektodermy, endodermy, mezodermy) i neurulacja (powstanie cewy nerwowej, z której rozwinie się ośrodkowy układ nerwowy). Stwierdzono, że alkohol powoduje zmiany epigenetyczne ( biochemiczne modyfikacje ekspresji genów bez zmiany sekwencji nukleotydów) komórek tworzących wczesne stadia rozwojowe myszy (morula, blastocysta) oraz obniża tempo podziałów blastomerów, prowadząc do zahamowania wzrostu blastocysty. Co oznacza wpływ alkoholu na komórki jeszcze przed ich zagnieżdżeniem (implantacją) w macicy.  
Zarówno alkohol, jak i składniki dymu tytoniowego wpływają na zmiany strukturalne i czynnościowe łożyska, narządu tworzonego przez matkę, jak i rozwijające się dziecko. Palenie tytoniu zmniejsza przepływ krwi w unaczynieniu macicznym i w tętnicy pępowinowej, ale jednocześnie zwiększa przepływ krwi w tętnicy mózgowej w porównaniu z grupą niepalącą, co może być adaptacją chroniącą mózg przed niedotlenieniem. Dym tytoniowy powoduje zmniejszenie liczby kosmków (elementy strukturalne łożyska), a także zmiany w ich strukturze (pogrubienia śródbłonka naczyń, wzrost zawartości kolagenu w zrębie, zmniejszenia unaczynienia, redukcję liczby mikrokosmków) oraz funkcjonowaniu. Zmiany strukturalne łożyska zachodzące w wyniku palenia tytoniu przez kobietę ciężarną prowadzą do obniżenia jego masy, zmniejszają efektywność wymiany substancji między matką a płodem, zwiększają ryzyko jego odklejenia, które u kobiet palących znacząco wzrasta w porównaniu z ciężarnymi niepalącymi. Część tych zmian obserwowano także w wyniku działania alkoholu.  
Zatem wpływ używek na rozwój nowego organizmu jest wielokierunkowy i to już od wczesnych etapów rozwoju. Używki wpływają nie tylko na komórki tworzącego się zarodka, ale także na błony płodowe, bez których nie może się on rozwijać.

**Jak przebiega proces tworzenia embrionu i jaki wpływ na jego rozwój mają substancje teratogenne, np. alkohol?**

Początkiem rozwoju człowieka jest proces zapłodnienia, w wyniku którego połączone gamety (plemnik i komórka jajowa) utworzą zygotę – pierwszą komórkę nowego organizmu. Zygota dzieli się, dając kolejne komórki zwane blastomerami. W tym czasie zachodzi przemieszczanie nowego organizmu z jajowodu do macicy, gdzie następuje jego zagnieżdżenie w ścianie tego narządu. W ciągu trzech tygodni bardzo intensywnych podziałów namnażające się komórki utworzą tarczkę zarodkową o średnicy ok. 1 mm, zbudowaną z trzech grup komórek: ektodermy, endodermy, mezodermy, zwanych listkami zarodkowymi. W kolejnych tygodniach komórki te utworzą wszystkie elementy budujące ciało nowego organizmu. Wokół tarczki z zygoty powstają w tym okresie również błony płodowe (owodnia, kosmówka, pęcherzyk żółtkowy), które biorą udział w procesie przekazywania substancji odżywczych i tlenu od matki do komórek dziecka, ochraniają przed urazami mechanicznymi, bronią przed patogenami (wirusami, bakteriami), usuwają metabolity. W okresie do ósmego tygodnia rozwijające się dziecko nazywamy zarodkiem – wtedy zmienia się bardzo wygląd zewnętrzny, z płaskiej tarczki w wyniku złożonych procesów tworzą się wszystkie elementy budujące ciało człowieka – głowa z zarysem twarzy, klatka piersiowa, kończyny, oczy, uszy. Po ósmym tygodniu zarodek wyglądem zewnętrznym przypomina miniaturowego człowieka, ma około 3. cm długości (bez długości kończyn dolnych) i 1 g masy. Ze względu na tę wyraźną zmianę wyglądu zewnętrznego nazywany jest płodem. W tym okresie kształtują się wszystkie narządy i tworzone przez nie układy. Jedne rozwijają się bardzo dynamicznie, np. serce (od 22. dnia pompuje krew – zarodek ma wtedy ok. 5 mm długości, a w 8. tygodniu ma już ostateczną strukturę anatomiczną), a inne tworzą się przez całą ciążę np. układ nerwowy (bazą do rozwoju jest powstająca z rynienki nerwowej już w 4. tygodniu cewa nerwowa, z której powstaje mózg i rdzeń kręgowy). Płód znajduje się w owodni – balonie wypełnionym płynem owodniowym (główny składnik to woda) o temperaturze ciała matki – co między innymi istotnie określa inne warunki fizjologiczne dla rozwijającego się dziecka, np. płuca nie pobierają powietrza aż do momentu narodzin, a konieczny tlen dziecko otrzymuje od matki poprzez łożysko. Łożysko to bardzo ważny narząd, w tworzeniu którego bierze udział matka (ściana macicy) i dziecko (kosmówka). Poprzez łożysko dziecko otrzymuje wszystkie, niezbędne do rozwoju, substancje odżywcze. To łożysko pełni funkcje oddechowe płuc i wydalnicze nerek, aż do narodzin dziecka, chroni przed infekcjami, produkuje wiele hormonów. Niestety przez łożysko z łatwością przenikają znajdujące się we krwi matki substancje szkodliwe dla dziecka np. alkohol, nikotyna, narkotyki, które stanowią zagrożenie w czasie całej ciąży ze względu na zróżnicowane tempo rozwoju różnych narządów. Okresem szczególnie niebezpiecznym są pierwsze 2-3 miesiące, kiedy wszystko ma swój początek. Działający w tym okresie czynnik (np. alkohol i jego metabolity, nikotyna) może zaburzyć rozwój wielu struktur, np. mózgu, twarzy, serca. Tempo rozwoju poszczególnych narządów jest zróżnicowane (np. minimalne warunki do funkcjonowania płuc są spełnione od ok. 28. tygodnia), natomiast mózg rozwija się przez całą ciążę. Proces rozwoju wewnątrzmacicznego dziecka trwa 38. tygodni od dnia zapłodnienia.

Już dawno wykazano doświadczalnie, że alkohol i jego metabolity mają działanie embriotoksyczne – niszczą komórki zarodka. Obecnie dysponujemy możliwością oceny zmian genów (genomika), białek (proteomika) czy metabolitów (metabolomika) w wyniku działania alkoholu na zarodki, np. analiza zmian proteomicznych wykazała, że alkohol powodował zmiany w ekspresji genów związanych głównie ze stresem oksydacyjnym (zaburzenie równowagi pomiędzy wolnymi rodnikami a przeciwutleniaczami) oraz metabolizmem retinoidów (pochodnych witaminy A). Kwas retinowy to ważny czynnik prawidłowej embriogenezy, ale działający różnie w zależności od stężenia, dlatego każde zaburzenie jego fizjologicznej zawartości jest bardzo niebezpieczne dla rozwijającego się zarodka. Jest on ważnym czynnikiem regulującym działanie genów homeotycznych kontrolujących kształtowanie ciała zarodka (rozwój morfologiczny) w czasie embriogenezy. Zaburzenie ich działania prowadzi do zmian w rozwoju kończyn, twarzy, układu nerwowego.   
Szczególnie dużo danych doświadczalnych wskazuje na wpływ alkoholu na rozwijający się mózg dziecka. Do około 6. miesiąca życia płodowego odbywa się proces namnażania neuronów i ich migracja w celu utworzenia struktury kory mózgu (neurogeneza), potem tworzą się połączenia między neuronami a komórkami docelowymi (powstają synapsy), zachodzi mielinizacja nerwów – procesy przebiegające jeszcze długo po narodzinach. W świetle danych doświadczalnych alkohol wpływa nie tylko na neurony, ale także na komórki gleju niezbędne do odżywiania i ochrony neuronów. Alkohol jest neurotoksyczny, czyli powoduje śmierć komórek nerwowych. Prawdopodobnie powoduje także niepoprawną aktywację komórek mikrogleju, które zamiast chronić neurony mogą współuczestniczyć w ich niszczeniu.   
Zatem można stwierdzić, że alkohol, ale także i nikotyna, zaburzają podstawowe procesy embriogenezy, takie jak: namnażanie komórek, ich migrację, różnicowanie. W czasie embriogenezy ważnym procesem jest fizjologiczna śmierć komórek (apoptoza) w czasie tworzenia ostatecznych struktur narządów, dlatego zwiększenie nasilenia tego procesu przez alkohol może działać destrukcyjnie na rozwijające się narządy.

**W jakim stopniu dieta i styl życia kobiety może mieć wpływ na jakość materiału genetycznego?**

To jest bardzo zróżnicowany i wieloczynnikowy problem, dlatego chcę zwrócić uwagę tylko na jeden element – nadwagę/otyłość. Kobiety z wysokim wskaźnikiem BMI mają zaburzenia owulacji w związku z rozregulowaniem kontroli hormonalnej będącej wynikiem współdziałania podwzgórza, przysadki i jajników. Stwierdza się także zaburzenia w zmianach strukturalnych błony śluzowej macicy (endometrium) , po zagnieżdżeniu się zarodka (endometrium staje się tzw. doczesną), co prowadzi do problemów w rozwoju łożyska. Otyłość wpływa na oocyty (gamety żeńskie) i komórki wczesnych stadiów rozwojowych m.in. poprzez zaburzenia podziałów komórek czy zmiany w metabolizmie mitochondriów. Jest to głównie wynik wydzielania przez komórki tłuszczowe aktywnych biologiczne substancji (adipokin, np. leptyny) wpływających na inne komórki.

**Jakie znaczenie dla prawidłowego rozwoju embrionalnego dziecka ma fakt picia alkoholu przez ojca?**

Alkohol wpływa na proces produkcji plemników zwany spermatogenezą zachodzący w strukturach jąder zwanych kanalikami nasiennymi. Ścianę kanalików nasiennych tworzą głównie komórki spermatogenezy. Jest to proces, w wyniku którego z komórek zwanych spermatogoniami drogą mejozy (podział komórki, w wyniku którego komórki potomne otrzymują połowę chromosomów) powstają spermatydy (komórka owalna bez witki), a z nich po morfologicznym dojrzewaniu (zmiany wyglądu, morfologii komórki) plemniki (ma charakterystyczne elementy: główkę, ogon z witką). Czas potrzebny na wyprodukowanie plemnika w kanalikach krętych jądra to prawie dwa miesiące. Proces ten podlega regulacji hormonalnej przez oś podwzgórze-przysadka-gonady. Alkohol wpływa na metabolizm testosteronu, przebieg spermatogenezy oraz parametry nasienia. Picie alkoholu powoduje zmiany morfologiczne plemników, szczególnie części plemnika zwanej główką (brak lub więcej niż jedna), w której znajduje się ojcowskie DNA. Nieprawidłowe plemniki występują zawsze, ale ich odsetek wyraźnie wzrasta u mężczyzn pijących alkohol. Wykazano, że zaburzenia spermatogenezy (azospermia) mogę się cofnąć po zaprzestaniu picia alkoholu. Zmiany te prawdopodobnie są wynikiem zaburzeń regulacji hormonalnej spermatogenezy lub bezpośredniego działania alkoholu na jądra. Etanol jest toksyczny dla komórek Leydiga produkujących testosteron. Badania na zwierzętach wykazały, że alkohol powoduje śmierć komórek budujących nabłonek kanalików nasiennych jąder. Komórki w wyniku działania alkoholu umierają głównie drogą apoptozy. W badaniach wykazano, że wraz ze zwiększoną częstotliwością spożywania alkoholu spada objętość ejakulatu oraz liczba plemników i ich ruchliwość. Alkohol zaburza działanie głównej osi hormonalnej podwzgórze-przysadka-jądra. Zmiany te prowadzą do obniżenia masy jąder i zahamowania spermatogenezy, a tym samym obniżają płodność. Badania na zwierzętach wykazały, że alkohol prowadzi do obniżenia masy jąder, najądrzy, pęcherzyków nasiennych, niszczenia komórek nabłonka kanalików krętych jądra, redukcji liczby plemników oraz obniżenia ich ruchliwości. Badania osób pijących alkohol wykazały zmiany parametrów nasienia, np. obniżenie objętości, zmniejszenie liczby plemników oraz ich ruchliwości, a także zmiany w poziomie hormonów (testosteron, FSH, LH) kontrolujących funkcjonowanie jąder i ich receptorów. Zatem zarówno dane doświadczalne, jak i dane o osobach pijących alkohol wyraźnie wskazują na znaczący wpływ tej używki na produkcję plemników.   
Zdecydowanie mniej jest danych na temat wpływu alkoholu na produkcję gamet żeńskich (oogenezę). Komórka jajowa (oocyt) jest otoczona kilkoma warstwami komórek ziarnistych, które razem tworzą tzw. pęcherzyki jajnikowe zlokalizowane w korze jajnika. Wyniki pochodzące z badań na zwierzętach wskazują, że alkohol zmienia metabolizm komórek ziarnistych otaczających oocyt w dojrzałym pęcherzyku jajnikowym , co może mieć znaczenie dla jakości oocyta – komórki, która po jajeczkowaniu jest zapładniana przez plemnik w jajowodzie. Alkohol obniża ruchliwość rzęsek nabłonka pokrywającego światło jajowodu, co może prowadzić do zaburzeń przemieszczania się zarodka z miejsca zapłodnienia (jajowodu) do miejsca implantacji (macicy). Zatem alkohol może zwiększać ryzyko ciąży pozamacicznej (ektopowej). Niewątpliwie alkohol wpływa na wytwarzanie dojrzałych gamet, co w połączeniu z możliwością powodowania epigenetycznych zmian w chromatynie plemników może mieć ogromne znaczenie dla rozwoju zarodka/płodu.

**Czy fakt nadużywania alkoholu w poprzednich pokoleniach wpływa na płodność i jakość materiału genetycznego pokoleń obecnych?**

To bardzo trudny do zbadania problem i ciągle otwarty. W latach 90. ubiegłego wieku grupa duńskich naukowców przebadała prawie 350 dwudziestoletnich mężczyzn z udokumentowanymi zmianami hormonów płciowych w dniu ich narodzin. Te zmiany były wynikiem picia alkoholu przez ich matki w czasie ciąży. Po dwudziestu latach stwierdzono znaczące obniżenie koncentracji plemników, które korelowało z ilością alkoholu spożywanego przez matki w czasie ciąży.

**Czy zmiany wywołane nadużywaniem alkoholu mogą być przekazywane kolejnym pokoleniom?**

Pierwsze obserwacje o możliwym wpływie alkoholu na kolejne pokolenia przedstawił Stockard na początku XX wieku w swoich eksperymentach z kawiami domowymi (świnki morskie) poddanymi działaniu alkoholu. W ostatnich latach pojawiają się doświadczalne obserwacje, że potomstwo samców poddanych działaniu alkoholu przed zapłodnieniem/poczęciem potomstwa wykazuje zmiany neurobiologiczne (zmiany grubości kory mózgu, zmiany zawartości neuroprzekaźników np. dopaminy) i behawioralne (zwiększona agresja). Uważa się, że jest to wynikiem mechanizmów epigenetycznych zmian DNA w plemnikach.   
Epigenetyczne zmiany to wszystkie chemiczne modyfikacje chromatyny (DNA oraz białek histonów), które wpływają na jej strukturę oraz funkcje genów, bez zmian sekwencji nukleotydów jądrowego DNA. Główne mechanizmy epigenetyczne to metylacja DNA, modyfikacje histonów (białek budujących nukleosomy, podstawowe jednostki struktury chromatyny) oraz działanie różnego rodzaju niekodujący cząsteczek RNA. W przeciwieństwie do genomu, który nie ulega zasadniczym zmianom w większości komórek organizmu, epigenom ulega dynamicznym zmianom w odpowiedzi na różne czynniki. Dobrze poznanym mechanizmem zmian epigenetycznych jest metylacja DNA, która prowadzi do zahamowania ekspresji genu, czyli braku produktu tego genu lub zmniejszenia jego ilości. Zmiany epigenetyczne są potencjalnie dziedziczne. Wyniki badań sugerują, że epigenetyczne zmiany mogą być przekazywane przez gamety kolejnym pokoleniom. Jest to tzw. epigenetyczne dziedziczenie. W ostatnich latach pojawiły się prace na zwierzętach wskazujące na zależność między konsumpcją alkoholu w czasie ciąży a zmianami w pokoleniu drugim (F2). Wykazano, że wywołana podaniem alkoholu ciężarnej myszy hypermetylacja (zwiększona metylacja) genu *POMC* (gen dla proopiomelanokortyny) w podwzgórzu i w konsekwencji zmiany behawioralne były przekazywane w linii męskiej. Analiza wykazała, że hypermetylacja pojawiła się także w plemnikach, co zapewniało dziedziczenie tej zmiany.   
W embriogenezie epigenetyczne modyfikacje chromatyny są bardzo ważnym elementem prawidłowego rozwoju, dlatego zmieniające je czynniki są bardzo niebezpieczne. W modelach zwierzęcych wykazano, że alkohol wpływa na wszystkie mechanizmy epigenetyczne w trakcie rozwoju embrionalnego. Wiele danych wskazuje na istotne znaczenie tych zmian w powstawaniu neurologicznych defektów u zarodków/płodów poddanych działaniu alkoholu. Stwierdzano zmiany metylacji komórek w obszarze zwanym hipokampem, który odpowiada za pamięć oraz zmiany w komórkach tzw. neurosfer imitujących rozwój kory mózgu (neurosfery to kuliste struktury otrzymywane w hodowli in vitro z neuronalnych komórek macierzystych).   
Badania obecnie skupiają się na poszukiwaniu powodowanych alkoholem zmian metylacji w liniach męskich u zwierząt i ludzi. Wykazano, że u mężczyzn pijących dużo alkoholu dochodzi do obniżenia metylacji niektórych genów np. *H19* w plemnikach. Następnie w modelu zwierzęcym wykazano, że ta zmiana metylacji genu *H19* w pokoleniu F2 była również obecna w komórkach mózgu. W modelach zwierzęcych wykazano, że gen *H19* uczestniczy w epigenetycznym przekazywaniu efektu ojcowskiej ekspozycji na alkohol.   
Wobec kilku genów (*H19, POMC, BDNF, DAT*) wykazano doświadczalnie, że zmiana ich wzoru metylacji wywołana działaniem alkoholu i stwierdzona w plemnikach, w kolejnych pokoleniach pojawia się również w komórkach mózgu. Zatem indukowana działaniem alkoholu zmiana epigenetyczna pojawiła się w kolejnych pokoleniach zarówno w komórkach płciowych, jak i somatycznych. Oczywiście mechanizm dziedziczenia zmian wywołanych alkoholem wymaga jeszcze wielu badań. Dotychczas wykazano, że indukowana alkoholem zmiana metylacji genu może być dziedziczona w linii męskiej. A co z linią żeńską? Czy alkohol wywołuje zmiany epigenetyczne w oocytach, które mogą być przekazywane kolejnym pokoleniom? To jeszcze nierozwiązane zagadnienie. Należy jednak pamiętać o bardzo istotnej różnicy – osobnik męski zaczyna produkować gamety (komórki rozrodcze) dopiero w okresie pokwitania, natomiast osobnik żeński rodzi się już z gametami, oczywiście jeszcze niedojrzałymi.

**Dziękuję za rozmowę.**