

Mehanizmi djelovanja bisfenola A na muški reproduktivni sustav

Čižmek, Tara

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:625567>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Tara Čižmek

**Mehanizmi djelovanja bisfenola A na muški
reproduktivni sustav**

Završni rad

Zagreb, 2024.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Tara Čižmek

**Mechanisms of action of bisphenol A on
human male reproductive system**

Bachelor thesis

Zagreb, 2024.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularne biologije na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Romane Gračan.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Mehanizmi djelovanja bisfenola A na muški reproduktivni sustav

Tara Čižmek

Horvatovac 102A, 10000 Zagreb, Hrvatska

Bisfenol A (BPA) je industrijska kemijska tvar široko korištena u proizvodnji polikarbonatnih plastika i epoksidnih smola, prisutnih u svakodnevnim proizvodima. Ovaj rad predstavlja pregled dosadašnjih toksikoloških i *in vitro* istraživanja te istraživanja na životinjama o utjecaju bisfenola A na muški reproduktivni sustav. Toksikološka istraživanja na ljudima pokazala su da izlaganje bisfenolu A uzrokuje smanjenu kvalitetu spermija, promjene u razinama hormona i dodatne reproduktivne poremećaje, čime se ovaj spoj svrstava u endokrine disruptore. Endokrini disruptori su spojevi koji negativno utječu na funkciju endokrinog sustava i time narušavaju zdravstveno stanje organizama. *In vitro* istraživanja pokazuju štetne učinke bisfenola A na Leydigove i Sertolijeve stanice, koje su neophodne za proizvodnju testosterona i spermatogenezu. Bisfenol A izaziva oksidativni stres, oštećenja DNA i apoptozu u tim stanicama, ometajući njihovu normalnu funkciju i narušavajući spermatogenezu. Ova istraživanja također ističu potencijalne transgeneracijske učinke, što ukazuje na to da bisfenol A može utjecati i na izravno izložene pojedince i na njihovo potomstvo. Buduća istraživanja trebala bi se usredotočiti na razjašnjavanje detaljnih mehanizama djelovanja kako bi se mogli razviti postupci zaštite te uvesti regulatorne mjere koje su važne za ublažavanje rizika izloženosti bisfenolu A i zaštitu javnog zdravlja.

Ključne riječi: Endokrini disruptori, oksidativni stres, estrogen, neplodnost, hormonska ravnoteža

(27 stranica, 5 slika, 0 tablica, 64 literaturnih navoda, jezik izvornika: Hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Romana Gračan

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Action mechanisms of bisphenol A on human male reproductive system

Tara Čižmek

Horvatovac 102A, 10000 Zagreb, Croatia

Bisphenol A (BPA) is industrial chemical widely used in the production of polycarbonate plastics and epoxy resins, found in numerous consumer products. This bachelor thesis reviews epidemiological, *in vitro*, and animal studies of bisphenol A's impact on the male reproductive system. Epidemiological studies have shown that exposure to bisphenol A causes reduced sperm quality, changes in hormone levels and additional reproductive disorders, which classifies this compound as an endocrine disruptor. Endocrine disruptors are compounds that negatively affect the function of the endocrine system and thus impair the health of organism. *In vitro* studies demonstrate bisphenol A's harmful effects on Leydig and Sertoli cells, which are essential for testosterone production and spermatogenesis. Bisphenol A induces oxidative stress, DNA damage and apoptosis in these cells, disrupting normal function and spermatogenesis. These studies also highlight potential transgenerational effects, indicating that bisphenol A can impact both directly exposed individuals and their progeny. Future research should focus on clarification of the precise action mechanisms to develop protection procedures and regulatory measures which will reduce bisphenol A exposure risks and protect public health.

Keywords: Endocrine disruptors, oxidative stress, estrogen, infertility, hormonal balance
(27 pages, 5 figures, 0 tables, 64 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Assoc. Prof. Romana Gračan, PhD

Sadržaj

| | |
|--|-----------|
| Sadržaj | 6 |
| 1. UVOD | 1 |
| 2. BISFENOL A | 3 |
| 2.1. FIZIKALNO - KEMIJSKA SVOJSTVA | 3 |
| 2.2. UPOTREBA I IZVORI IZLOŽENOSTI | 3 |
| 2.3. BISFENOL A U ORGANIZMU | 4 |
| 2.4. DETEKCIJA BISFENOLA A U BIOLOŠKIM UZORCIMA..... | 5 |
| 3. NEPLODNOST KOD MUŠKARACA | 6 |
| 3.1. PREGLED TRENUTNIH SAZNANJA O NEPLODNOSTI | 6 |
| 3.2. NAJČEŠĆI UZROCI NEPLODNOSTI KOD MUŠKARACA..... | 6 |
| 4. ISTRAŽIVANJE UČINKA BISFENOLA A NA MUŠKI HUMANI REPRODUKTIVNI SUSTAV | 7 |
| 4.1. TEHNIKE ISTRAŽIVANJA..... | 7 |
| 4.2. REZULTATI TOKSIKOLOŠKIH ISTRAŽIVANJA | 7 |
| 5. MEHANIZMI DJELOVANJA | 9 |
| 5.1. UVOD U MEHANIZME | 9 |
| 5.2. UTJECAJ NA HORMONE | 10 |
| 5.3. UTJECAJ PUTEM ESTROGENSKIH RECEPTORA | 12 |
| 5.4. EPIGENETSKO NASLJEĐIVANJE..... | 15 |
| 5.5. OKSIDATIVNI STRES..... | 15 |
| 6. UTJECAJ NA OSTALE SUSTAVE | 17 |
| 7. ZAŠTITA OD ŠETNOG UČINKA | 18 |
| 8. ZAKLJUČAK | 19 |
| 9. LITERATURA | 20 |
| 10. ŽIVOTOPIS | 27 |

1. UVOD

U posljednjih nekoliko desetljeća, raste zabrinutost zbog izloženosti raznim kemijskim tvarima koje narušavaju normalnu funkciju endokrinog sustava. Istraživanje njihovih učinaka i mehanizama djelovanja postalo je popularna tema unutar znanstvene zajednice. Endokrini disruptori su, po definiciji, tvari koje mogu ometati rad endokrinog sustava, uzrokujući brojne zdravstvene probleme kod ljudi i životinja (Marques-Pinto i Carvalho, 2013).

Ljudski endokrini sustav je vrlo složeni sustav žlijezda i hormona koji reguliraju mnoge funkcije tijela, uključujući rast, metabolizam i reprodukciju. Hormoni su kemijski glasnici koje proizvode i luče endokrine žlijezde, oni zatim putuju kroz krvotok i djeluju na ciljne organe (Hall, 2021). Stanice ciljnih organa podražene su vezanjem hormona na specifične receptore na njihovim membranama čime su potaknuti signalni putevi koji omogućuju željene odgovore stanica (Hall, 2021). Kontrola i nadzor rada endokrinog sustava ključni su za održavanje homeostaze organizma. Razine hormona kontrolirane su mehanizmima negativne i pozitivne povratne sprege. Mehanizam negativne povratne sprege funkcionira tako da kada razina hormona postane previsoka, inhibirano je daljnje lučenje tog hormona kako bi se razina vratila u normalu (Hall, 2021). Nasuprot tome, pozitivna povratna sprega pojačava lučenje hormona sve do specifičnog ishoda koji će prekinuti lučenje npr. izlaz bebe iz porođajnog kanala prilikom porođaja obustavit će lučenje oksitocina (Hall, 2021).

Endokrini disruptori ometaju rad endokrinog sustava tako što imitiraju prirodne hormone, blokiraju njihove receptore ili mijenjaju njihov metabolizam, što može dovesti do različitih zdravstvenih problema (Rahman i Pang, 2019). Uslijed izlaganja određenoj količini mogu poremetiti rad svih endokrinih žlijezda (Rahman i Pang, 2019). Vrlo je opasan njihov učinak na reproduktivno zdravlje i plodnost. Poremećaji koje uzrokuju u hormonalnoj ravnoteži mogu dovesti do problema s ovulacijom, spermatogenezom i održavanjem trudnoće, čime značajno utječu na sposobnost začeća (Rahman i Pang, 2019).

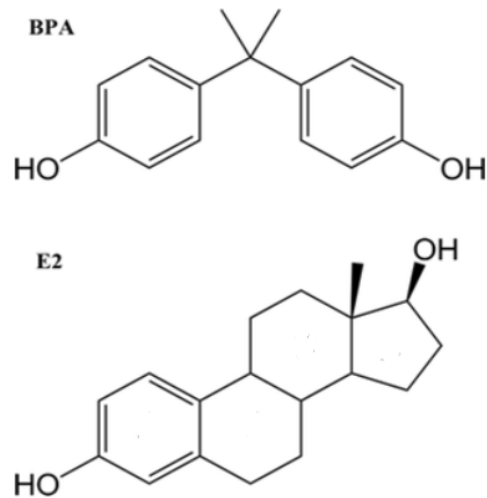
Jedan od najistraživanijih endokrinih disruptora je bisfenol A (BPA) (Santiago i sur., 2021). Bisfenol A je industrijska sintetska kemijska tvar koja se koristi u proizvodnji polikarbonatne plastike i epoksidnih smola (Presunto i sur., 2023). Prisutan je u mnogim svakodnevnim proizvodima kao što su plastične boce, spremnici za hranu, dentalni materijali i oblozi limenki.

Zbog svoje široke primjene, BPA je postao jedan od najraširenijih kontaminanata u okolišu (Presunto i sur., 2023). Dosad provedena istraživanja ukazuju na to da može imati značajan negativan utjecaj na endokrini sustav čovjeka, posebice spolne žlijezde i plodnost (Marques-Pinto i Carvalho, 2013). Toksikološka istraživanja na ljudima pokazuju povezanost između visokih razina BPA u urinu i krvnom serumu sa smanjenom kvalitetom i brojem spermija te poremećajima u ravnoteži spolnih hormona (Vandenberg i sur., 2019). Mnoga su istraživanja fokusirana na mehanizme djelovanja BPA. Do sada je najviše informacija o mehanizmima otkriveno *in vitro* istraživanjima na spolnim stanicama (Rahman i Pang, 2019). Jedan od najštetnijih učinaka BPA je oksidativni stres koji uzrokuje u spolnim stanicama zbog čega one gube vijabilnost (Bansal i Bilaspuri, 2011). Međutim, unatoč brojnim istraživanjima i otkrićima postoji još mnogo nepoznanica. Buduća istraživanja najviše će se trebati fokusirati na mehanizme djelovanja jer će ta saznanja otvoriti vrata prema otkriću mogućih načina sprječavanja štetnih učinaka kod već izloženih ljudi. Zasad postoji potencijal u zaštiti uz pomoć antioksidansa, no potrebno je detaljnije istražiti tu mogućnost (Rahman i sur., 2019). S obzirom da će zabrane korištenja BPA u proizvodnji samo djelomično riješiti problem izloženosti, budući da je značajna količina već u okolišu, od velike je važnosti osmisliti postupke supresije štetnog djelovanja. Također u toksikološkim istraživanjima važno je uzeti u obzir način života, dob i kliničku sliku ispitanika kako bi se istražili potencijalni čimbenici koji čine ljude osjetljivijima na učinke BPA. Ono što predstavlja velik problem u istraživanjima je mogućnost sinergističkog učinka endokrinih disruptora (Rochester, 2013) Istraživanja u laboratoriju su izolirana od vanjskih utjecaja te su posljedice izlaganja određenim dozama BPA vrlo vjerojatno blaže od onih u prirodi. Neplodnost predstavlja velik problem suvremenog doba te je njezin nagli porast u populaciji odraz visoke kontaminacije endokrinim disruptorima. Istraživanja posvećena endokrinim disruptorima od velike su važnosti kako bi se poboljšala i zaštitila mogućnost reprodukcije ljudi. Cilj ovog završnog rada je istražiti literaturu o utjecaju BPA na muški reproduktivni sustav s posebnim naglaskom na mehanizme djelovanja i analizu toksikoloških istraživanja.

2. BISFENOL A

2.1. FIZIKALNO - KEMIJSKA SVOJSTVA

Bisfenol A (BPA) sintetska je organska tvar, molekularne formule $C_{15}H_{16}O_2$ i punog naziva 4,4-dihidroksi-2,2-difenilpropan. Pri sobnoj temperaturi i atmosferskom tlaku je bijela kruta tvar. Molekularna masa BPA iznosi 228, 29 g/cm^3 . Sintetizira se reakcijom kondenzacije dvije molekule fenola i molekule acetona u kiselim uvjetima. Dobro je topiv u mastima i organskim otapalima, a lošije u vodi. Hidroksilne skupine vezane na aromatske prstene odgovorne su za njegovu reaktivnost. Njegova kemijska struktura sliči estrogenu (slika 1) zbog čega može oponašati njegovo djelovanje. To ga čini endokrinim disruptorom te ima za posljedicu niz negativnih učinaka ukoliko se nađe u ljudskom organizmu (Rahman i Pang, 2019).



Slika 1. Kemijska struktura bisfenola A (BPA) i estrogena (E2). (Preuzeto i prilagođeno od: Li i sur., 2015).

2.2. UPOTREBA I IZVORI IZLOŽENOSTI

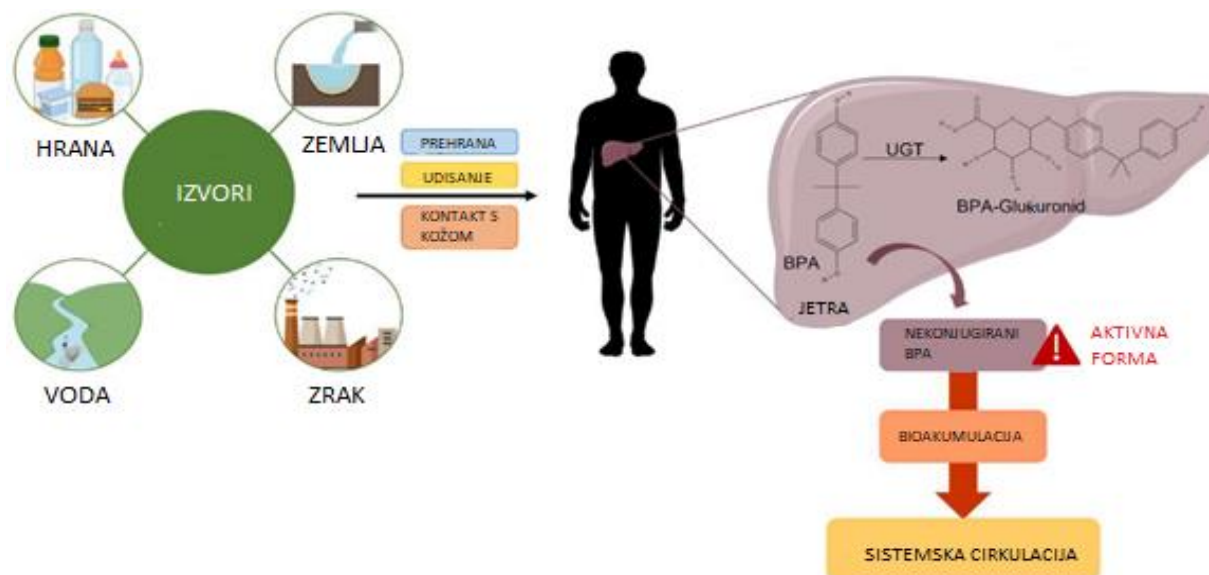
Bisfenol A uglavnom se koristi u proizvodnji plastike i epoksidnih smola kao monomer čijom se polimerizacijom dobivaju poliepoksidi i polikarbonati. Prvi put je sintetiziran 1981. godine, a od 1950-ih se intenzivno koristi u proizvodnji plastičnih bočica, konzervi, zaštitnih premaza, plastičnih pakiranja, igračaka, kozmetičkih proizvoda te mnogih drugih široko raširenih proizvoda (Presunto i sur., 2023). Dugogodišnjim korištenjem raznih produkata koji sadrže BPA kontaminacija je dovedena na visoku razinu. Ljudi stupaju u kontakt s BPA putem brojnih izvora

od kojih je glavni izvor izloženosti hrana. Plastična pakiranja za hranu te razni zaštitni premazi konzervi i metalnih spremnika sadrže polimerizirani BPA čiji monomeri hidrolizom migriraju u hranu i tekućine (Michałowicz, 2014). Iako je kontaminacija hrane na ovaj način većinom u vrlo malim količinama, čestom uporabom istih plastičnih predmeta te njihovo izlaganje višim temperaturama prilikom pranja pospješuje hidrolizaciju čestica u hranu (Michałowicz, 2014). Konzumacijom kontaminirane hrane BPA se direktno unosi u organizam. Drugi najčešći način unošenja je udisanjem. Bisfenol A dospijeva u atmosferu emisijom iz raznih tvornica koje proizvode ili koriste plastiku za proizvodnju. U atmosferi ostaje adhezivno vezan na druge čestice. U zraku je detektirana mala koncentracija BPA pa se udisanjem može unijeti vrlo mala količina (Michałowicz, 2014). Veći problem predstavljaju dijelovi kućanstva koji dugotrajnijom uporabom otpuštaju sve veću količinu čestica koje se skupljaju u kućnoj prašini te se udisanjem zraka u takvom kućanstvu može unijeti veća količina u organizam (Presunto i sur., 2023). Otpadnim vodama iz tvornica BPA dospijeva i u obližnje rijeke i potoke.

2.3. BISFENOL A U ORGANIZMU

Sudbina BPA u organizmu shematski je prikazana na slici 2. Unosom u organizam putem hrane, apsorbira se u krvotok iz probavnog sustava. Putem krvi odlazi u jetru gdje se metabolizira. U jetri se konjugira putem reakcije glukuronidacije koju katalizira enzim uridin difosfat glukuronoziltransferaza (Dekant i Völkel, 2008). Konjugacija inaktivira BPA te se povećava njegova topivost u vodi čime se pospješuje ekskrecija putem urina (Santiago i sur., 2021). Nekonjugirani BPA ima brojne negativne učinke te se akumulira u raznim tkivima, najčešće adipoznom tkivu, zbog svojstva dobre topivosti u mastima, te u reproduktivnim organima (Presunto i sur., 2023). Metaboliziranjem BPA u jetri može nastati i 4-metil-2,4-dihidroksifenil pent-1-en (MBP) (Rehan i sur., 2015). MBP se pokazao kao najaktivnija forma BPA tj. ima tisuću puta veći afinitet za vezanje na estrogenske receptore (Rehan i sur., 2015). Forme BPA različitih aktivnosti mogle bi predstavljati problem u analizi toksikoloških istraživanja. Količina BPA neće nužno jasno korelirati s intenzitetom negativnog efekta jer on ovisi i o omjeru vrsta metabolita BPA koji nastaju u organizmu. Izlaganje BPA najopasnije je u fetalnom stadiju zbog vrlo niske količine glukuronidacijskog enzima zbog čega većina BPA ostaje u aktivnoj formi (Presunto i sur., 2023). Bisfenol A prelazi placentalnu barijeru i na taj način iz majčine krvi dolazi do fetusa (Lorigo i Cairrao, 2022). Novorođenčad je također intenzivno izložena BPA putem majčinog mlijeka u

kojem se akumulira u značajnim koncentracijama (Huo i sur., 2015). Unos putem kože rezultira najvišom koncentracijom aktivnog BPA jer se na taj način izbjegne metaboliziranje u jetri (Santiago i sur., 2021). Otprilike 99% oralno unesenog BPA konjugira se te izbacuje urinom najviše 24 sata nakon konzumiranja, a ostatak ostaje u aktivnoj formi u organizmu tj. kao slobodan nekonjugirani BPA ili MBP (Thayer i sur., 2015).



Slika 2. Shematski prikaz izvora izloženosti ljudi bisfenolu A (BPA), načina unosa te njegova sudbina u organizmu. (Preuzeto i prilagođeno od: Presunto i sur., 2023).

2.4. DETEKCIJA BISFENOLA A U BIOLOŠKIM UZORCIMA

Istraživanja iz cijelog svijeta pokazuju detektabilne količine BPA u urinu preko 90% ispitanika (Colorado-Yohar i sur., 2021). Za potrebe kvantifikacije izloženosti ljudi BPA najčešće se mjeri njegova koncentracija u urinu, budući da se tamo nalazi većina unesenog BPA nakon metaboliziranja u jetri. Nedavna istraživanja pokazuju zamjetne količine ne samo u urinu, već i u amnionskoj tekućini, krvnom serumu, placentalnom krvotoku te kolostrumu (Vandenberg i sur., 2019). Koncentracije BPA u urinu variraju između 1,6 i 946 $\mu\text{g/L}$, dok su u krvnom serumu koncentracije značajno manje te variraju između 0,2 i 20 ng/mL (Völkel i sur., 2005). Prisutna je iznimna heterogenost dobivenih rezultata u različitim istraživanjima iz više država te se mnogim novijim istraživanjima pokušavaju sistematizirati rezultati. Dobivene koncentracije ovise o razini izloženosti ispitanika, načinu izloženosti, preciznosti metoda mjerenja te stupnju kontaminacije uzoraka (Colorado-Yohar i sur., 2021).

3. NEPLODNOST KOD MUŠKARACA

3.1. PREGLED TRENUTNIH SAZNANJA O NEPLODNOSTI

Prema svjetskoj zdravstvenoj organizaciji, osoba se smatra neplodnom nakon neuspjelog začeća uslijed redovnog nezaštićenog odnosa u periodu od godinu dana. Brojna istraživanja pokazuju značajno pogoršanje reproduktivnog zdravlja i funkcije populacije, pretežno razvijenijih država, od sredine dvadesetog stoljeća (Presunto i sur., 2023). Prema izvješću Svjetske zdravstvene organizacije trenutno je oko 17.5 % populacije neplodno (Cox i sur., 2022). Brojke variraju s obzirom na razvijenost zemlje koja se analizira. Slabije razvijene zemlje imaju manji problem s neplodnošću (Agarwal i sur., 2015). Kod parova koji nisu u mogućnosti začeti, u 38% slučajeva razlog je ženska neplodnost, u 20% slučajeva muška, dok kod 27% oba partnera imaju reproduktivnu disfunkciju (Cox i sur., 2022). S obzirom na naglo pogoršanje reproduktivnog stanja populacije znanstvenici smatraju da uzrok nisu genetičke promjene (Rahman i Pang, 2019). Nagli porast neplodnosti od sredine dvadesetog stoljeća prati nagli porast u industrijskoj proizvodnji raznih spojeva i lijekova za koje se smatra da imaju štetan učinak te da djeluju kao endokrini disruptori. Intenzivno se testiraju spojevi za koje se sumnja da mogu imati takav učinak te su se za neke potvrdile pretpostavke zbog čega dolazi do smanjenja dopuštenih doza za unos u organizam te zabrana korištenja određenih spojeva u proizvodnji. Bisfenol A jedan je od spojeva za koje su istraživanja pokazala štetno djelovanje na reproduktivnu funkciju.

3.2. NAJČEŠĆI UZROCI NEPLODNOSTI KOD MUŠKARACA

Normalnu reproduktivnu funkciju nadzire endokrini sustav. Ukoliko dođe do hormonalne neravnoteže, rezultat je smanjena mogućnost uspješne gametogeneze što dovodi do neplodnosti. Neplodnost može uzrokovati smanjen broj spermija, abnormalni spermiji ili spermiji smanjene vijabilnosti i mogućnosti kretanja. Hormonalnu neravnotežu mogu uzrokovati razni vanjski čimbenici koji uključuju način života i izloženost određenim kemijskim agensima koji djeluju kao endokrini disruptori ili uzrokuju oksidativni stres u gametama koji narušava njihovu vijabilnost (Cargnelutti i sur., 2022). Ostali uzroci uključuju kriptorhizam, rak testisa, inzulinsku rezistenciju, spolno prenosive bolesti te razne druge.

4. ISTRAŽIVANJE UČINKA BISFENOLA A NA MUŠKI HUMANI REPRODUKTIVNI SUSTAV

4.1. TEHNIKE ISTRAŽIVANJA

Potvrditi ima li BPA negativan učinak na muški humani reproduktivni sustav te uzrokuje li neplodnost, vrlo je kompleksno. Zbog etičkih razloga nisu moguća direktna *in vivo* istraživanja na ljudima, stoga se provode toksikološka istraživanja u kojima se sakupljaju uzorci urina i seruma te se pokušava uspostaviti korelacija razine BPA i razine hormona koji nadziru reproduktivnu funkciju te rezultata analiza kvalitete sjemene tekućine sa spermijima. Također se provode istraživanja na miševima gdje ih se u kontroliranim uvjetima izlaže određenim koncentracijama BPA te se prati njegov učinak (Xue Xia i sur., 2021). Istraživanja na životinjama pokazala su da izloženost BPA može dovesti do smanjenja broja spermija, promjena u morfologiji spermija, oštećenja genoma u spermijima te promjena u razini hormona važnih za reproduktivnu funkciju (Xue Xia i sur., 2021). Vrlo su učinkovita istraživanja *in vitro* na spolnim stanicama gdje se prati učinak BPA na njihovu brojnost, vijabilnost i pokretljivost (Wetherill i sur., 2007). Istraživanja *in vitro* do sada su omogućila najviše informacija o samom molekularnom mehanizmu djelovanja BPA (Rahman i Pang, 2019). Pružaju brze i precizne rezultate te su ekonomična. Animalna i *in vitro* istraživanja potvrđuju povezanost razine BPA u organizmu i razine spolnih hormona, brojnosti spermija te vijabilnosti spermija (Presunto i sur., 2023). Izlaganje miševa BPA uzrokovalo je oksidativni stres te abnormalnu sintezu hormona (Xue Xia i sur., 2021). Bez obzira na potvrde animalnim istraživanjima, učinak na ljude zahtjeva daljnje istraživanje.

4.2. REZULTATI TOKSIKOLOŠKIH ISTRAŽIVANJA

Provedena su brojna istraživanja u kojima su se sakupljali uzorci urina i krvnog seruma muškaraca najčešće u dobi između 18 i 55 godina. U sakupljenim uzorcima mjerene su razine BPA, folikulstimulirajućeg hormona, luteinizacijskog hormona, prolaktina, estrogena, testosterona te globulina koji veže spolne hormone. Također brojna istraživanja proučavala su poveznicu razine BPA i kvalitete i brojnosti spermija. Provedeno je istraživanje u Danskoj u kojem su korišteni uzorci urina i krvnog seruma 308 muškaraca. Kod 98% muškaraca razina BPA u urinu bila je iznad granice detekcije. Pokazana je povezanost viših koncentracija BPA s nižim koncentracijama testosterona, višim koncentracijama luteinizacijskog hormona i estrogena te nižim udjelom

progresivnih spermija (Lassen i sur., 2014). Međutim, nije pronađena poveznica s brojnošću spermija (Lassen i sur., 2014).

Istraživanje u Italiji koristilo je uzorke urina 715 muškaraca s otprilike jednakom izloženosti BPA te također pokazalo poveznicu nižih razina testosterona s višim koncentracijama BPA (Galloway i sur., 2010).

Istraživanje u Kini koristilo je uzorke krvnog seruma 281 radnika koji su zaposleni u tvornici s visokom izloženosti BPA te 278 radnika tvornice bez značajne izloženosti BPA. Kod izložene grupe muškaraca detektirane su značajno više razine BPA u krvnom serumu nego kod druge grupe. Također je istražen utjecaj duljine izloženosti tj. zaposlenosti u tvornici te su uspoređeni rezultati razina BPA kod muškaraca zaposlenih kraće od pet godina i dulje od pet godina. Kod radnika izloženih dulji period detektirana je viša razina BPA (Zhuang i sur., 2015). Samo kod radnika sa značajno višom razinom BPA detektirana je snižena razina androgena i povećana razina globulina koji veže spolne hormone u krvi (Zhuang i sur., 2015).

Istraživanje provedeno u Poljskoj na uzorcima urina 315 muškaraca proučavalo je povezanost razine BPA s kvalitetom i brojnošću spermija. Rezultati su pokazali lošiju pokretljivost spermija, lomove kromosoma te abnormalnu morfologiju spermija kod muškaraca s višim razinama BPA u urinu (Radwan i sur., 2018). Rezultati su potvrđeni još jednim istraživanjem u kojem je primijećen isti negativan učinak na kvalitetu spermija (Pollard i sur., 2019).

Nekoliko istraživanja s istim ciljem kao dosad navedena, nisu potvrdila rezultate koji ukazuju na štetan učinak BPA na reproduktivni sustav. Na primjer, istraživanje u Španjolskoj provedeno na 215 mladih zdravih studenata u dobi između 18 i 23 godine nije pokazalo značajnu poveznicu razine BPA u urinu i razine spolnih hormona te kvalitete spermija (Adoamnei i sur., 2018). Ispitani uzorci s višim razinama BPA imali su normalne razine hormona i spermije normalne kvalitete i morfologije (Adoamnei i sur., 2018).

Zbog rezultata istraživanja koja ne pokazuju abnormalne razine spolnih hormona u muškaraca s visokom razinom BPA, znanstvenici su počeli sumnjati na utjecaj drugih faktora na njegovo štetno djelovanje. Provedeno je zanimljivo istraživanje u Danskoj na dvije skupine muškaraca. Jedna skupina bila je kontrolna, dok su muškarci druge skupine imali mutaciju u genu za epidermalni protein filagrin, važan za održavanje kožne barijere. Muškarci kontrolne grupe s visokim razinama BPA u urinu imali su normalne razine spolnih hormona te vijabilne spermije (Joensen i sur., 2018).

Kod muškaraca druge grupe, visoke razine BPA bile su povezane sa sniženim razinama testosterona i povišenim razinama estrogena te slabijom pokretljivošću spermija (Joensen i sur., 2018). Također još jedno istraživanje ispitalo je utjecaj pušenja i indeksa tjelesne mase na osjetljivost na visoke razine BPA. Pokazano je da su pušači, pretile ili pothranjene osobe osjetljivije na njegovo djelovanje (Liang i sur., 2017). Svi ispitanici te grupe s povećanim razinama BPA imali su povišen folikulstimulirajući hormon i snižen testosteron (Liang i sur., 2017). U kontrolnoj skupini samo je određen dio ispitanika s povišenom razinom BPA imao abnormalne razine spolnih hormona (Liang i sur., 2017). Ova istraživanja ukazuju na važnost drugih čimbenika u istraživanju štetnog utjecaja BPA pa tako i svih ostalih endokrinih disruptora. Način života, starost i zdravstveno stanje mogu modulirati osjetljivost reproduktivnog sustava. Unatoč nekim kontradiktornim rezultatima, velika većina istraživanja jasno ukazuje da postoji štetan učinak BPA na reproduktivni sustav muškaraca i njihovu plodnost, no potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdili i objasnili rezultati toksikoloških istraživanja.

5. MEHANIZMI DJELOVANJA

5.1. UVOD U MEHANIZME

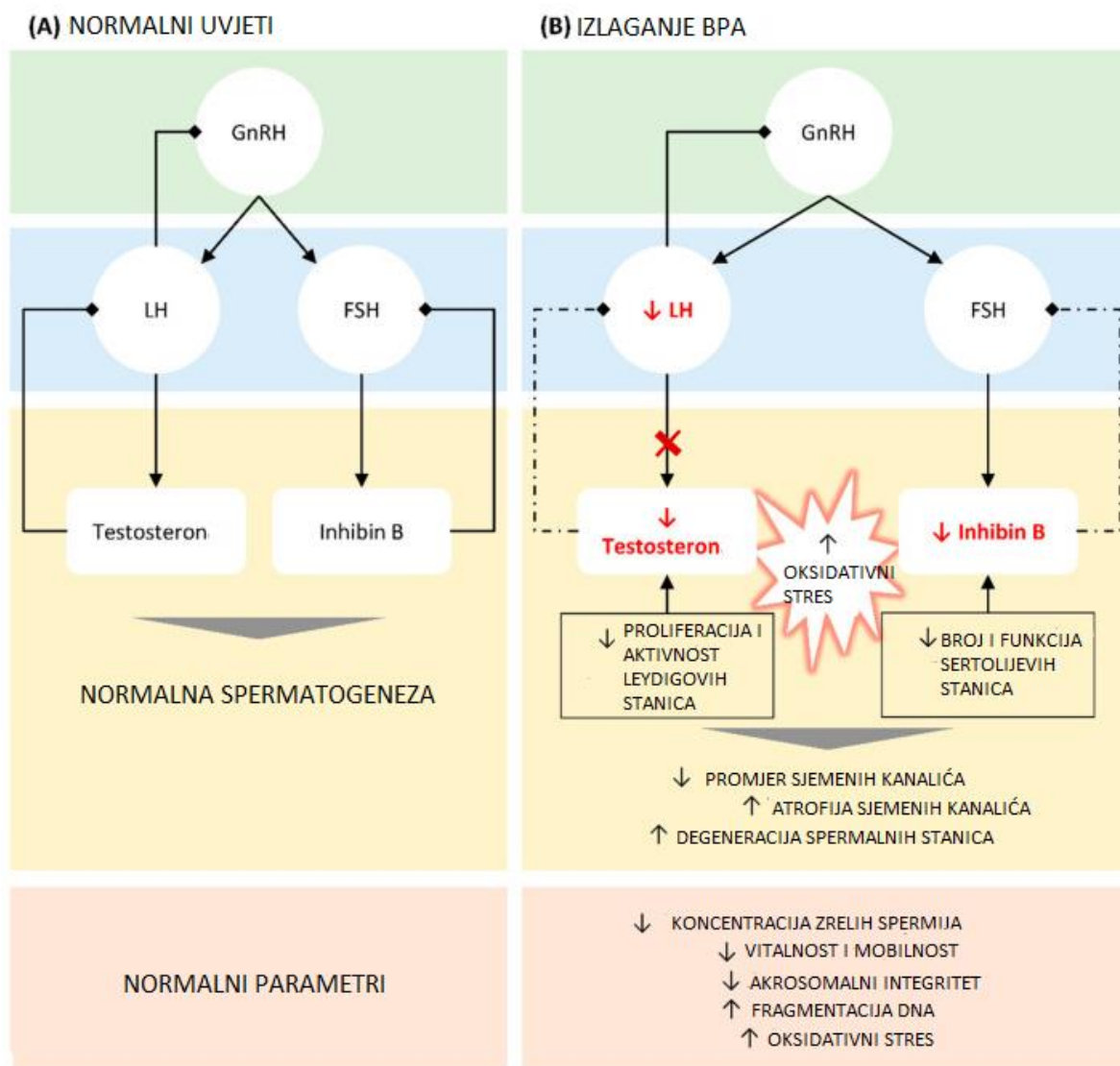
Mehanizmi djelovanja bisfenola A na muški reproduktivni sustav istraženi su *in vitro* eksperimentima na spermijima te *in vivo* eksperimentima na miševima. Za normalno funkcioniranje muškog reproduktivnog sustava ključno je više faktora. Potrebna je normalna razina hormona uključenih u reprodukciju, funkcionalni receptori za iste hormone na stanicama, uspješna spermatogeneza, pravilna ekspresija gena te zaštita zrelih spermija i stanica testisa od oksidativnog stresa. Bisfenol A može poremetiti spermatogenezu zbog interakcije s estrogenim receptorima (Rochester, 2013). Na različite načine uzrokuje odstupanja u normalnim razinama spolnih hormona (Maamar i sur., 2015). Također može uzrokovati oksidativni stres na koji su stanice spermatogenetske loze vrlo osjetljive s obzirom na povećanu potrošnju kisika uslijed brojnih dioba te rasta i diferencijacije (Sabeti i sur., 2016). Oksidativni stres u Leydigovim i Sertolijevim stanicama testisa narušava njihovu funkciju što se također odražava na razine spolnih hormona i uspješnost spermatogeneze (Wang, Qi, i sur., 2017).

5.2. UTJECAJ NA HORMONE

Spermatogeneza se odvija u testisima, a nadziru ju hormoni hipotalamusa, hipofize i samih stanica testisa. Spermatogeneza uključuje spermatocitogenezu, mejozu i spermiogenezu. Spermatocitogenezom nastaju spermatocite iz početnih stanica spermatogonija (Hall, 2021). Mejozom spermatocita nastaju spermatide koje konačnim sazrijevanjem u procesu spermiogeneze postaju zreli spermiji (Hall, 2021). Testisi se nalaze unutar čahure od gustog vezivnog tkiva. Građu testisa čine režnjeviti sačinjeni od zavijenih sjemenih kanalića u kojima se odvija spermatogeneza. Sjemeni kanalići građeni su od sjemenog epitela kojeg čine Sertolijeve stanice i stanice spermatogenetske loze (Hall, 2021). Sertolijeve stanice odgovorne su za potporu, zaštitu i prehranu spermija, lučenje androgen vezujućeg proteina (ABP), inhibina B te čine barijeru prema krvi (Hall, 2021). Intersticij testisa čine Leydigove stanice, stanice vezivnog tkiva i imunskog sustava. Leydigove stanice zadužene su za lučenje testosterona koji je potreban za stimulaciju razvoja spermija (Hall, 2021). Hipotalamus luči gonadotropin oslobađajući hormon (GnRH) koji djeluje na receptore stanica hipofize. Na podražaj GnRH hipofiza luči luteinizacijski hormon (LH) i folikulstimulirajući hormon (FSH) u krvotok (Hall, 2021). Luteinizacijski hormon potiče Leydigove intersticijske stanice na lučenje testosterona, a folikulstimulirajući hormon djeluje na Sertolijeve epitelne stanice. Testosteron potiče razvoj sekundarnih spolnih karakteristika i spermatogenezu. U sjemenim kanalićima veže se na ABP koji luče Sertolijeve stanice i na taj način stimulira razvoj spermija (Hall, 2021). Testosteron i inhibin B smanjuju lučenje FSH i LH. Na taj način razine hormona kontrolirane su negativnom povratnom spregom (Hall, 2021). FSH također potiče sintezu estrogena od testosterona u Sertolijevim stanicama. Fiziološke razine estrogena važne su u procesu spermiogeneze (Hall, 2021).

Bisfenol A ometa reprodukciju mijenjajući razine hormona. Negativno djeluje na Leydigove stanice smanjujući njihovu aktivnost i proliferaciju (Gonçalves i sur., 2018). U procesu steroidogeneze koja se odvija u Leydigovim stanicama sudjeluje više enzima. Pokazano je da BPA utječe na njihovu ekspresiju (Lan i sur., 2017). Pojačava ekspresiju *cyp19* gena za enzim aromatazu koja katalizira pretvorbu androgena u estrogen (Lan i sur., 2017). Pojačana ekspresija aromataze smanjuje lučenje luteinizacijskog hormona hipofize (Lan i sur., 2017). Također se pokazalo da inhibira ekspresiju *cyp17* gena koji kodira enzim odgovoran za sintezu dehidroepiandrosterona, važnog prekursora androgena i estrogena (Lan i sur., 2017). Konačna posljedica njegovog djelovanja na razine hormona je hipersekrecija estrogena i snižena razina testosterona. Manjkom

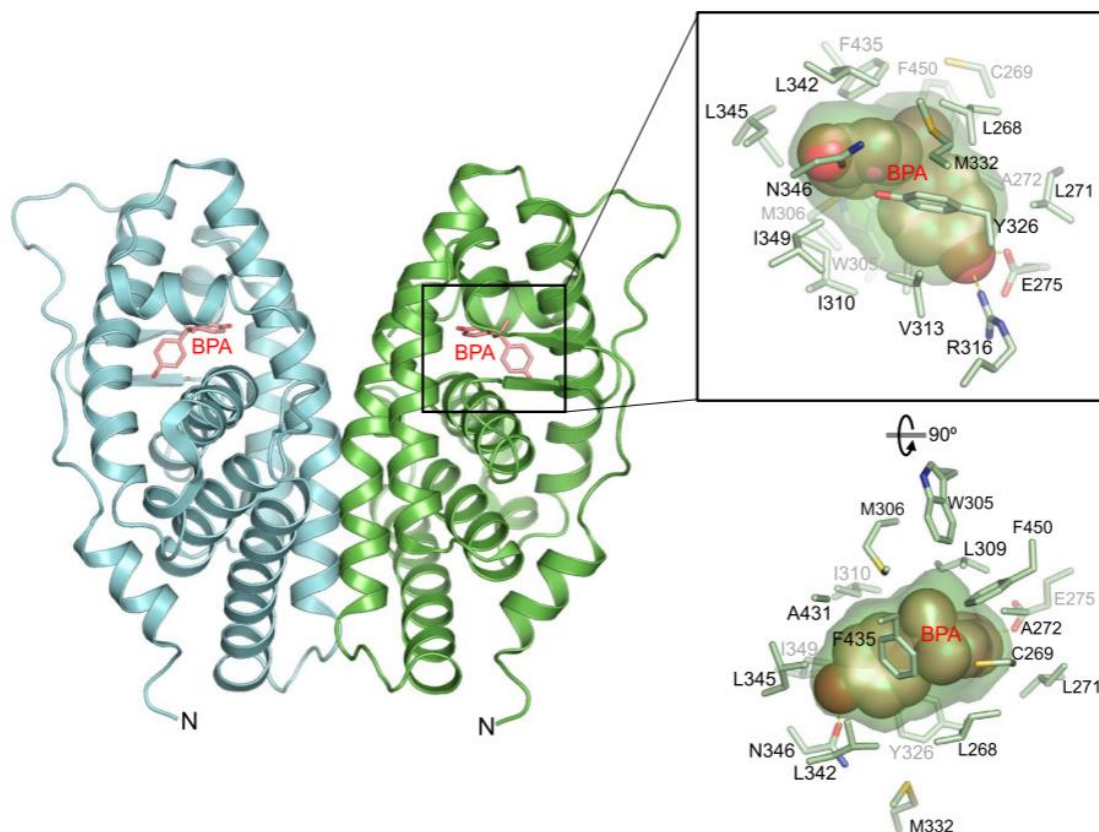
testosterona smanjuje se djelovanje na Sertolijeve stanice i poticanje spermatogeneze. Negativan učinak na Leydigove i Sertolijeve stanice može dovesti i do oštećenja sjemenih kanalića te odumiranja spermatoocita u razvoju (Jiang i sur., 2016). U konačnici odrasli muškarci izloženi višim razinama BPA zbog promijenjenih razina spolnih hormona i oštećenja stanica testisa imaju smanjenu koncentraciju spermija i mogućnost reprodukcije. Osim izlaganja u odrasloj dobi, istražene su posljedice izlaganja BPA kod miševa u fetalnom razdoblju. Rezultati istraživanja pokazali su da BPA onemogućava normalan razvitak testisa što rezultira dugoročnom nemogućnošću reprodukcije (Maamar i sur., 2015).



Slika 3. Shematski prikaz negativnog učinka BPA na hormonalnu ravnotežu te negativne učinke na tkivo sjemenika i spermatogenezu. A) Prikaz normalnih uvjeta bez izlaganja BPA. Gonadotropin oslobodajući hormon (GnRH) izlučen iz hipotalamusa, potiče hipofizu na lučenje gonadotropnih hormona luteinizacijskog (LH) i folikulstimulirajućeg hormona (FSH). Luteinizacijski hormon djeluje na Leydigove stanice te potiče lučenje testosterona koji negativnom povratnom spregom smanjuje lučenje luteinizacijskog hormona. Folikulstimulirajući hormon djeluje na Sertolijeve stanice koje luče inhibin B koji negativnom povratnom spregom smanjuje lučenje folikulstimulirajućeg hormona. Normalne razine hormona rezultiraju normalnim spermalnim parametrima i spermatogenezom. B) Prikaz uvjeta u organizmu uslijed izlaganja BPA. Negativnim učinkom na proliferaciju i funkciju Leydigovih i Sertolijevih stanica testisa smanjuje razine inhibina B i testosterona. Time je onemogućeno djelovanje negativnom povratnom spregom na razine gonadotropnih hormona hipofize što je prikazano iscrtkanim linijama te indirektno pojačava njihovo lučenje. Pojačanje ekspresije aromataze djeluje negativno na lučenje luteinizacijskog hormona. Rezultat hormonalne neravnoteže i oksidativnog stresa je negativan učinak na spermatogenezu i nepravilnosti u razvoju spermija. (Preuzeto i prilagođeno od: Santiago i sur., 2021).

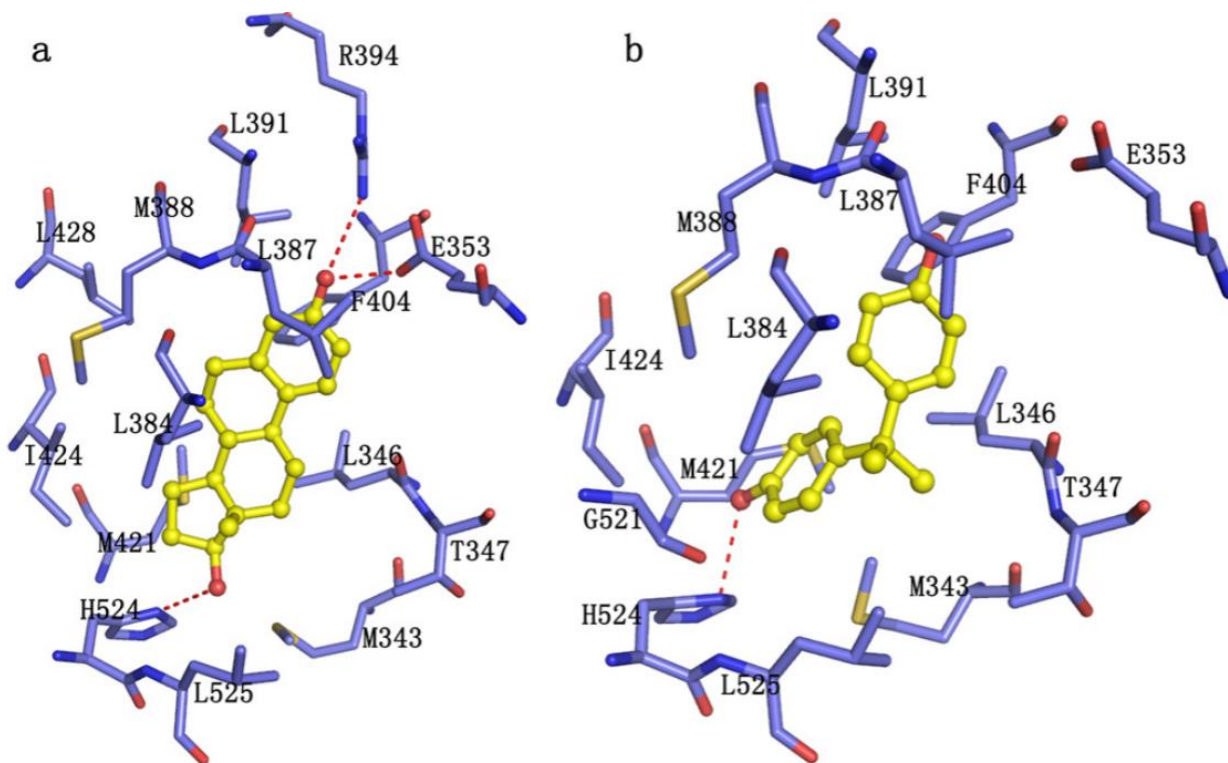
5.3. UTJECAJ PUTEM ESTROGENSKIH RECEPTORA

Bisfenol A oponaša hormonsko djelovanje te je pokazano da stupa u interakciju s nekoliko receptora koji se nalaze na humanim stanicama (Li i sur., 2015). Zbog molekularne strukture slične estrogenu veže se na estrogenski receptor alfa ($ER\alpha$), estrogenski receptor beta ($ER\beta$) i estrogen-srodni receptor gama ($ERR\gamma$) (Li i sur., 2015). Kristalna struktura kompleksa BPA i $ERR\gamma$ prikazana je na slici 4.



Slika 4. Kristalna struktura kompleksa bisfenola A (BPA) i estrogen-srodnog receptora gama (ERR γ). (Preuzeto i prilagođeno od: Matsushima i sur., 2022)

Vezno mjesto estrogenih receptora ne odgovara strogo samo strukturi estrogena zbog čega postoji afinitet za razne kontaminante slične strukture kao što je BPA (Heldring i sur., 2007). Međutim, BPA ne ostvaruje jednako povoljne interakcije s veznim mjestom receptora kao estrogen (Li i sur., 2015). Interakcije estrogena i BPA s veznim mjestom estrogenih receptora prikazane su na slici 5 .



Slika 5. Kristalna struktura kompleksa veznog mjesta ER α i a) estrogena i b) bisfenola A. Vodikove veze označene su crvenom bojom, a ligandi žutom bojom. Plavom bojom označene su aminokiseline veznog mjesta. (Preuzeto od: Li i sur., 2015)

Van der Waalsove interakcije između fenolnih skupina i hidrofobnih ogranka aminokiselina veznog mjesta ostvaruju oba liganda, međutim estrogen ostvaruje više vodikovih veza (Li i sur., 2015). Bisfenol A je manji te zauzima manji prostor u veznom mjestu što zajedno s manjkom vodikovih veza uzrokuje manje preferentno vezanje BPA u odnosu na estrogen (Li i sur., 2015). Bez obzira na to, istraživanja potvrđuju da dolazi do njihove interakcije te je to jedan od važnih mehanizama djelovanja na ljudski organizam.

Estrogenski receptori mogu se nalaziti na membrani stanica, u citoplazmi ili u jezgri (Rahman i Pang, 2019). Vezanje liganda potiče razne signalne puteve koji uključuju dodatne regulatorne proteine te moduliraju ekspresiju gena. Bisfenol A može interagirati s estrogenskim receptorima jezgre i direktno modulirati ekspresiju gena. Međutim, spermiji ne sadrže estrogenske receptore u jezgri (Rahman i Pang, 2019). Na njih djeluje putem membranskih estrogenskih receptora i receptora spregnutih s G proteinom (Wang i sur., 2017). Interakcija s membranskim estrogenskim receptorima modulira transkripciju i translaciju. Zreli spermiji nemaju aktivnu transkripciju i

translaciju, ali aktivacija navedenih signalnih puteva može modulirati posttranslacijske modifikacije proteina (Rahman i sur., 2017). Neadekvatne modifikacije proteina ometaju konačno sazrijevanje spermija i odvijanje ključnih reakcija koje prethode oplodnji kao što su akrosomalna reakcija, kretanje i prodor do jajne stanice (Rahman i sur., 2017). Interakcija s receptorima spregnutim s G proteinom dovodi do aktivacije nizvodnog signalnog puta koji uključuje niz fosforilacija regulatornih proteina koje također ometaju pravilno sazrijevanje i funkcioniranje spermija. Istraživanje na miševima pokazalo je da interakcija BPA s navedenim receptorima, osim ometanja sazrijevanja potiče i apoptozu zrelih spermija (Carreau i sur., 2012).

Estrogenski receptori također sudjeluju u morfogenezi te su vrlo važni za pravilan razvoj reproduktivnog sustava. Kao što je navedeno u poglavlju 2.3 BPA može prelaziti placentalnu barijeru između majke i fetusa. Izlaganje BPA u razdoblju morfogeneze može dovesti do razvitka abnormalnih žlijezda te izostanka reproduktivne sposobnosti (Delbès i sur., 2006).

5.4. EPIGENETSKO NASLJEĐIVANJE

Izlaganje bisfenolu A može dovesti do modifikacija epigenetskih oznaka DNA u spolnim stanicama (Susiarjo i sur., 2013). Detektirane su promjene u metilaciji DNA i histonskim modifikacijama (Manikkam i sur., 2013). Ove promjene mogu utjecati na regulaciju gena povezanih s razvojem, metabolizmom i imunskim odgovorom (Susiarjo i sur., 2013). Štoviše, istraživanja na životinjama pokazala su da ove epigenetičke promjene mogu biti naslijeđene kroz više generacija, što znači da negativni učinci BPA mogu utjecati ne samo na izloženu jedinku, već i na njezine potomke (Manikkam i sur., 2013).

5.5. OKSIDATIVNI STRES

Stanice testisa i spermatogenetske loze sklone su oksidativnom stresu zbog stalne kompeticije za kisikom (Asadi i sur., 2017). Potrebna je stalna visoka razina kisika zbog intenzivne mitohondrijske aktivnosti te učestalih dioba stanica spermatogenetske loze (Varma i sur., 2023). Također, oksidativnom stresu pridonosi i veća količina nezasićenih masnih kiselina koje su sklone oksidaciji (Varma i sur., 2023). Oksidativni stres uzrokuju reaktivne vrste kisika od kojih su najčešći vodikov peroksid, superoksidni anion i hidroksilni radikal. Oksidativnim stresom stanice oštećuju se lipidi, proteini i DNA što dovodi do razvijanja abnormalnih spermija smanjene mobilnosti i vitalnosti te u konačnici može dovesti do apoptoze (Varma i sur., 2023). Određena količina kisikovih

reaktivnih vrsta ipak je potrebna za esencijalne funkcije spermija. One su važne u mehanizmu kapacitacije, akrosomske reakcije te pokretanju samog spermija u jajovodu žene (Sabeti i sur., 2016). S obzirom na brojne negativne posljedice oksidativnog stresa, ali s druge strane i potrebe za reaktivnim vrstama kisika u određenoj količini, stanice sadrže mehanizam kontrole količine reaktivnih vrsta kisika. Mehanizam uključuje antioksidativne enzime, molekularne antioksidanse i kelate (Losada-Barreiro i sur., 2022). Antioksidativni enzim superoksidna dismutaza katalizira reakciju pretvorbe superoksidnih radikala u vodikov peroksid i molekularni kisik. Vodikov peroksid zatim enzim katalaza razlaže na vodu i kisik (Nandi i sur., 2019). Glutation peroksidaza, važan je antioksidativni enzim koji može direktno reducirati fosfolipidne hidroperokside nastale oštećenjem membrana oksidativnim stresom (Brigelius-Flohé, 2006). Navedeni enzimi često sadrže cink, bakar ili željezo koji su važni za njihov mehanizam djelovanja. Molekularni antioksidansi ne djeluju enzimatski, već vežu slobodne radikale te ih neutraliziraju predajući im elektrone. Time oni sami postaju radikali, no značajno manje opasni te se lako neutraliziraju. Važni molekularni antioksidansi su vitamini, glutacion, karotenoidi te nikotinamid adenin dinukleotid fosfat.

Rezultati istraživanja na miševima izloženim BPA pokazuju smanjenu mobilnost i koncentraciju spermija, povećanu količinu reaktivnih vrsta kisika te smanjenu aktivnost antioksidativnih enzima superoksidne dismutaze te glutaciona (Rezaee-Tazangi i sur., 2020). Još jedno istraživanje potvrdilo je navedene rezultate te dodatno otkrilo smanjenu aktivnost glutacion reductaze, katalaze te glutacion peroksidaze (Kaur i sur., 2018). Bisfenol A također uzrokuje disfunkciju mitohondrija smanjujući aktivnost enzima koji sudjeluju u ključnim metaboličkim procesima mitohondrija te povećanu aktivnost kaspaza što u konačnici dovodi do stanične smrti (Barbonetti i sur., 2016). Istraživanja su provedena i na kulturi Sertolijevih i Leydigovih stanica kod kojih BPA također uzrokuje disfunkciju mitohondrija, smanjenu aktivnost, a u konačnici moguću i staničnu smrt (Wang, Qi, i sur., 2017).

Dakle, ovim istraživanjima je potvrđen i objašnjen jedan od važnih mehanizama štetnog utjecaja BPA na mušku reproduktivnost djelovanjem na stanični antioksidativni mehanizam. Smanjenje aktivnosti antioksidativnih enzima te molekularnih antioksidanata uzrokuje povećano nakupljanje reaktivnih vrsta kisika u spermijima, Sertolijevim i Leydigovim stanicama što dovodi do oksidativnog stresa koji oštećuje DNA, lipide, proteine, smanjuje mobilnost spermija te dovodi do stanične smrti. Redukcija broja Sertolijevih stanica negativno se odražava na brojnost spermija

budući da im one osiguravaju hranjive tvari te čine zaštitnu barijeru prema krvi u kojoj se nalaze potencijalno štetne tvari. Redukcija broja Leydigovih stanica negativno se odražava na razinu testosterona.

6. UTJECAJ NA OSTALE SUSTAVE

Osim muškog reproduktivnog sustava BPA negativno utječe i na reproduktivni sustav žena. Smanjuje vijabilnost folikula, remeti proces mejoze te umanjuje uspješnost implantacije sličnim mehanizmima kao i kod muškaraca (Ziv-Gal i Flaws, 2016). Istraživanja također povezuju visoke razine BPA s povećanim rizikom od razvitka policističnih jajnika (Ziv-Gal i Flaws, 2016). Osim štetnog utjecaja na reproduktivni sustav BPA ima negativan učinak i na mnoge druge organske sustave. Istraživanja su pokazala da BPA može imati negativan učinak na kardiovaskularni sustav (Fonseca i sur., 2022). Toksikološka istraživanja na sakupljenim uzorcima urina čovjeka povezala su visoke razine BPA s povećanim rizikom od kardiovaskularnih bolesti uključujući hipertenziju, aterosklerozu te srčani udar (Fonseca i sur., 2022). Kod miševa izloženih BPA detektirane su negativne promjene u krvnom tlaku te srčane aritmije (Fonseca i sur., 2022). Glavni mehanizam kojim BPA utječe na rad srca je inhibicija kanala za ione kalcija čime onemogućava pravilno podraživanje srčanog mišića (Fonseca i sur., 2022). Također uzrokuje oksidativni stres u srčanim stanicama. Bisfenol A također može utjecati na rad bubrega, uzrokujući oksidativni stres u stanicama bubrega (Nagarajan i sur., 2024). Jukstaglomerularne stanice bubrega zadužene su za lučenje renina koji direktno utječe na razinu angiotenzina, važnog regulatora vazokonstrukcije krvnih žila tojest krvnog tlaka (Nagarajan i sur., 2024). Time BPA indirektno modulira krvni tlak djelovanjem putem bubrega (Nagarajan i sur., 2024). Postoji potencijal za narušavanje funkcije svih endokrinih žlijezda čovjeka oksidativnim stresom kojim je ometena sinteza i djelovanje hormona. Mnoga istraživanja pokazuju negativan učinak na sintezu hormona štitnjače, tiroksina i trijodtironina čime može doći do hipotireoze (Jaka i sur., 2023). Bisfenol A može također narušiti ravnotežu hormona važnih za metabolizam glukoze kao što je inzulin čime uzrokuje narušavanje homeostaze u metabolizmu glukoze te inzulinsku rezistenciju i dijabetes (Marmugi i sur., 2014). Dugotrajnim izlaganjem BPA može doći do ekspresije njegovog kancerogenog efekta. Narušavajući normalan rad stanica spolnih žlijezda i uvodeći razne epigenetske promjene može aktivirati abnormalni rast stanica koje su stimulirane estrogenom te dovesti do razvitka raka dojki ili jajnika (Dumitrascu i sur., 2020). Podizanjem svijesti o opasnosti BPA započeto je intenzivno

istraživanje njegovih negativnih učinaka. Novija istraživanja pokazuju sve širi spektar mehanizama i organskih sustava na koje može štetno djelovati.

7. ZAŠTITA OD ŠTETNOG UČINKA

Prvi korak u zaštiti ljudi od štetnog učinka bio je smanjiti izloženost. Sukladno dosadašnjim rezultatima istraživanja, zabranjeno je korištenje BPA u proizvodnji plastičnih predmeta za djecu mlađu od tri godine koji uključuju predmete u doticaju s dječjom hranom te dječje igračke (Lambré i sur., 2023). Europska agencija za sigurnost hrane propisala je novu dopuštenu dnevnu dozu za unos koja sada iznosi 4 µg/kg/dan, a prijašnja dozvoljena doza iznosila je čak 50 µg/kg/dan (Lambré i sur., 2023). Međutim, ove nove regulacije mogu samo umanjiti izloženost, ali ne mogu ju potpuno spriječiti s obzirom na veliku količinu BPA koji je već u okolišu. Potrebno je pronaći načine koji će umanjiti štetan učinak kod ljudi koji su već bili izloženi. Budući da BPA na spermatogenezu najintenzivnije utječe uzrokujući oksidativni stres, većina istraživanja istražuje utjecaj antioksidansa (Santiago i sur., 2021). Antioksidansi su reducirajuće kemijske tvari koje mogu spriječiti oksidativni stres neutralizacijom slobodnih radikala (Gulcin, 2020). Nekoliko istraživanja proučilo je učinak melatonina na miševe izložene BPA. Melatonin je značajno povišio razine i aktivnost enzima za zaštitu od oksidativnog stresa (Anjum i sur., 2011). Također je značajno snižena razina peroksidacije lipida, fragmentacije DNA i oksidacije proteina, a razine testosterona vraćene su u normalu (Anjum i sur., 2011). Melatonin je imao pozitivan učinak i kod prethodno izloženih miševa gdje je oksidativan stres već prisutan te kod izlaganja istovremeno s BPA (Wu i sur., 2013). Jednaku učinkovitost pokazali su vitamini B9, E, C i A (Rahman i sur., 2019). Dodatno vitaminom E moguće je spriječiti i fosforilacije regulatornih proteina koje uzrokuju abnormalnu preuranjenu akrosomsku reakciju (Rahman i sur., 2019). Mnogo istraživanja proučilo je i učinak raznih ekstrakta sekundarnih metabolita ljekovitih biljaka i gljiva. One su se također pokazale kao dobri antioksidansi (Santiago i sur., 2021). Međutim, istraživanja su provedena na životinjama te prije bilo kakvih pokušaja liječenja ljudi navedenim tvarima potrebna su dodatna sigurnosna istraživanja.

8. ZAKLJUČAK

Bisfenol A različitim mehanizmima štetno djeluje na razne organske sustave ljudi. Veliku opasnost predstavlja štetan učinak na reproduktivni sustav čime smanjuje plodnost populacije. Dosadašnja istraživanja ukazuju na to da BPA može narušiti hormonalnu ravnotežu djelujući kao estrogen vežući se na estrogenske receptore te uzrokovanjem oksidativnog stresa u stanicama koje proizvode hormone. Bisfenol A smanjuje razinu testosterona, uzrokuje poremećaje u spermatogenezi te smanjuje broj i kvalitetu spermija. Također uzrokuje oštećenja DNA u spermijima te promjene u ekspresiji gena. Dugoročni učinci izloženosti BPA, posebice tijekom osjetljivijih razvojnih faza kao što su fetalni period i pubertet, narušavaju normalan razvoj te mogu imati trajne negativne posljedice na muški reproduktivni sustav. Iako su dosadašnja istraživanja pružila značajan uvid u štetne učinke BPA, potrebna su daljnja istraživanja koja će detaljnije istražiti mehanizme djelovanja, dugoročne posljedice i sinergističke interakcije BPA s drugim tvarima. Regulativne mjere koje smanjuju izloženost BPA i osvještavanje javnosti o njegovim potencijalnim rizicima ključni su koraci u zaštiti reproduktivnog zdravlja. Važno je istražiti potencijalne mehanizme zaštite od štetnih učinaka. Za sada su potencijal pokazali tretmani antioksidansima. Kontinuirana istraživanja i unapređenje metoda za procjenu izloženosti BPA bit će od presudne važnosti za donošenje informiranih odluka o javnom zdravlju i sigurnosti kemikalija u budućnosti.

9. LITERATURA

- Adoamnei, E., Mendiola, J., Vela-Soria, F., Fernández, M. F., Olea, N., Jørgensen, N., Swan, S. H., Torres-Cantero, A. M. (2018). Urinary bisphenol A concentrations are associated with reproductive parameters in young men. *Environmental Research*, 161. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.002>
- Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M. R. (2015). A unique view on male infertility around the globe. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12958-015-0032-1>
- Anjum, S., Rahman, S., Kaur, M., Ahmad, F., Rashid, H., Ansari, R. A., Raisuddin, S. (2011). Melatonin ameliorates bisphenol A-induced biochemical toxicity in testicular mitochondria of mouse. *Food and Chemical Toxicology*, 49(11). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.07.062>
- Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., Rafieian-Kopaei, M. (2017). The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: A review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* (Sv. 11, Izdanje 5). <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23927.9886>
- Bansal, A. K., Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International* (Sv. 2011). <https://doi.org/10.4061/2011/686137>
- Barbonetti, A., Castellini, C., Di Giammarco, N., Santilli, G., Francavilla, S., Francavilla, F. (2016). In vitro exposure of human spermatozoa to bisphenol A induces pro-oxidative/apoptotic mitochondrial dysfunction. *Reproductive Toxicology*, 66. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.09.014>
- Brigelius-Flohé, R. (2006). Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biological Chemistry*, 387(10–11). <https://doi.org/10.1515/BC.2006.166>
- Cargnelutti, F., Di Nisio, A., Pallotti, F., Spaziani, M., Tarsitano, M. G., Paoli, D., Foresta, C. (2022). Risk factors on testicular function in adolescents. *Journal of Endocrinological Investigation* (Sv. 45, Izdanje 9). <https://doi.org/10.1007/s40618-022-01769-8>
- Carreau, S., Bouraima-Lelong, H., Delalande, C. (2012). Estrogen, a female hormone involved in spermatogenesis. *Advances in Medical Sciences* (Sv. 57, Izdanje 1). <https://doi.org/10.2478/v10039-012-0005-y>
- Colorado-Yohar, S. M., Castillo-González, A. C., Sánchez-Meca, J., Rubio-Aparicio, M., Sánchez-Rodríguez, D., Salamanca-Fernández, E., Ardanaz, E., Amiano, P., Fernández, M. F., Mendiola, J., Navarro-Mateu, F., Chirlaque, M. D. (2021). Concentrations of bisphenol-A in adults from the general population: A systematic review and meta-

- analysis. *Science of the Total Environment* (Sv. 775).
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145755>
- Cox, C. M., Thoma, M. E., Tchangalova, N., Mburu, G., Bornstein, M. J., Johnson, C. L., Kiarie, J. (2022). Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Open* (Sv. 2022, Izdanje 4). <https://doi.org/10.1093/hropen/hoac051>
- Dekant, W., Völkel, W. (2008). Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicology and Applied Pharmacology* (Sv. 228, Izdanje 1). <https://doi.org/10.1016/j.taap.2007.12.008>
- Delbès, G., Levacher, C., Habert, R. (2006). Estrogen effects on fetal and neonatal testicular development. *Reproduction* (Sv. 132, Izdanje 4). <https://doi.org/10.1530/rep.1.01231>
- Dumitrascu, M. C., Mares, C., Petca, R. C., Sandru, F., Popescu, R. I., Mehedintu, C., Petca, A. (2020). Carcinogenic effects of bisphenol A in breast and ovarian cancers (Review). *Oncology Letters* (Sv. 20, Izdanje 6). <https://doi.org/10.3892/OL.2020.12145>
- Fonseca, M. I., Lorigo, M., Cairrao, E. (2022). Endocrine-Disrupting Effects of Bisphenol A on the Cardiovascular System: A Review. *Journal of Xenobiotics* (Sv. 12, Izdanje 3). <https://doi.org/10.3390/jox12030015>
- Galloway, T., Cipelli, R., Guralnik, J., Ferrucci, L., Bandinelli, S., Corsi, A. M., Money, C., McCormack, P., Melzer, D. (2010). Daily bisphenol a excretion and associations with sex hormone concentrations: Results from the InCHIANTI adult population study. *Environmental Health Perspectives*, 118(11). <https://doi.org/10.1289/ehp.1002367>
- Gonçalves, G. D., Semprebon, S. C., Biazi, B. I., Mantovani, M. S., Fernandes, G. S. A. (2018). Bisphenol A reduces testosterone production in TM3 Leydig cells independently of its effects on cell death and mitochondrial membrane potential. *Reproductive Toxicology*, 76. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2017.12.002>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology* (Sv. 94, Izdanje 3). <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Hall E. J. (2021): Textbook of medical physiology, 14. izdanje. Elsevier, Philadelphia.
- Heldring, N., Pike, A., Andersson, S., Matthews, J., Cheng, G., Hartman, J., Tujague, M., Ström, A., Treuter, E., Warner, M., Gustafsson, J. Å. (2007). Estrogen receptors: How do they signal and what are their targets. *Physiological Reviews* (Sv. 87, Izdanje 3). <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2006>
- Huo, X., Chen, D., He, Y., Zhu, W., Zhou, W., Zhang, J. (2015). Bisphenol-a and female infertility: A possible role of gene-environment interactions. *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Sv. 12, Izdanje 9). <https://doi.org/10.3390/ijerph120911101>

- Jaka, O., Iturria, I., Martí, C., Hurtado de Mendoza, J., Mazón-Moya, M. J., Rummel, C., AMJ, W., Muriana, A. (2023). Screening for chemicals with thyroid hormone-disrupting effects using zebrafish embryo. *Reproductive Toxicology*, 121. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2023.108463>
- Jiang, Z., Wang, J., Li, X., Zhang, X. (2016). Echinacoside and Cistanche tubulosa (Schenk) R. wight ameliorate bisphenol A-induced testicular and sperm damage in rats through gonad axis regulated steroidogenic enzymes. *Journal of Ethnopharmacology*, 193. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.07.033>
- Joensen, U. N., Jørgensen, N., Thyssen, J. P., Szecsi, P. B., Stender, S., Petersen, J. H., Andersson, A. M., Frederiksen, H. (2018). Urinary excretion of phenols, parabens and benzophenones in young men: Associations to reproductive hormones and semen quality are modified by mutations in the Filaggrin gene. *Environment International*, 121. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.09.020>
- Kaur, S., Saluja, M., Bansal, M. P. (2018). Bisphenol A induced oxidative stress and apoptosis in mice testes: Modulation by selenium. *Andrologia*, 50(3). <https://doi.org/10.1111/and.12834>
- Lambré, C., Barat Baviera, J. M., Bolognesi, C., Chesson, A., Cocconcelli, P. S., Crebelli, R., Gott, D. M., Grob, K., Lampi, E., Mengelers, M., Mortensen, A., Rivière, G., Silano, V., Steffensen, I. L., Tlustos, C., Vernis, L., Zorn, H., Batke, M., Bignami, M., ... Van Loveren, H. (2023). Re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*, 21(4). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.6857>
- Lan, H. C., Wu, K. Y., Lin, I. W., Yang, Z. J., Chang, A. A., Hu, M. C. (2017). Bisphenol A disrupts steroidogenesis and induces a sex hormone imbalance through c-Jun phosphorylation in Leydig cells. *Chemosphere*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.004>
- Lassen, T. H., Frederiksen, H., Jensen, T. K., Petersen, J. H., Joensen, U. N., Main, K. M., Skakkebaek, N. E., Juul, A., Jørgensen, N., Andersson, A. M. (2014). Urinary bisphenol a levels in young men: Association with reproductive hormones and semen quality. *Environmental Health Perspectives*, 122(5). <https://doi.org/10.1289/ehp.1307309>
- Li, L., Wang, Q., Zhang, Y., Niu, Y., Yao, X., Liu, H. (2015). The molecular mechanism of bisphenol A (BPA) as an endocrine disruptor by interacting with nuclear receptors: Insights from molecular dynamics (MD) simulations. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120330>
- Liang, H., Xu, W., Chen, J., Shi, H., Zhu, J., Liu, X., Wang, J., Miao, M., Yuan, W. (2017). The association between exposure to environmental bisphenol A and gonadotropic hormone levels among men. *PLoS ONE*, 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169217>

- Liu, X. X., Wang, Z. X., Liu, F. J. (2021). Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere*, 262. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127880>
- Lorigo, M., Cairrao, E. (2022). Fetoplacental vasculature as a model to study human cardiovascular endocrine disruption. *Molecular Aspects of Medicine* (Sv. 87). <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.101054>
- Losada-Barreiro, S., Sezgin-Bayindir, Z., Paiva-Martins, F., Bravo-Díaz, C. (2022). Biochemistry of Antioxidants: Mechanisms and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines* (Sv. 10, Izdanje 12). <https://doi.org/10.3390/biomedicines10123051>
- Maamar, M. Ben, Lesne, L., Desdoits-Lethimonier, C., Coiffec, I., Lassurguère, J., Lavoué, V., Deceuninck, Y., Antignac, J. P., Le Bizec, B., Perdu, E., Zalko, D., Pineau, C., Chevrier, C., Dejucq-Rainsford, N., Mazaud-Guittot, S., Jégou, B. (2015). An investigation of the endocrine-disruptive effects of bisphenol A in human and rat fetal testes. *PLoS ONE*, 10(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117226>
- Manikkam, M., Tracey, R., Guerrero-Bosagna, C., Skinner, M. K. (2013). Plastics Derived Endocrine Disruptors (BPA, DEHP and DBP) Induce Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity, Reproductive Disease and Sperm Epimutations. *PLoS ONE*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055387>
- Marmugi, A., Lasserre, F., Beuzelin, D., Ducheix, S., Huc, L., Polizzi, A., Chetivau, M., Pineau, T., Martin, P., Guillou, H., Mselli-Lakhal, L. (2014). Adverse effects of long-term exposure to bisphenol A during adulthood leading to hyperglycaemia and hypercholesterolemia in mice. *Toxicology*, 325. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2014.08.006>
- Marques-Pinto, A., Carvalho, D. (2013). Human infertility: are endocrine disruptors to blame? *Endocrine Connections*, 2(3). <https://doi.org/10.1530/ec-13-0036>
- Matsushima, A., Teramoto, T., Kakuta, Y. (2022). Crystal structure of endocrine-disrupting chemical bisphenol A and estrogen-related receptor γ . *Journal of Biochemistry* (Sv. 171, Izdanje 1). <https://doi.org/10.1093/jb/mvab145>
- Michałowicz, J. (2014). Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Pharmacology* (Sv. 37, Izdanje 2). <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.003>
- Nagarajan, M., Maadurshni, G. B., Manivannan, J. (2024). Exposure to low dose of Bisphenol A (BPA) intensifies kidney oxidative stress, inflammatory factors expression and modulates Angiotensin II signaling under hypertensive milieu. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 38(1). <https://doi.org/10.1002/jbt.23533>
- Nandi, A., Yan, L. J., Jana, C. K., Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- And Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/9613090>

- Pollard, S. H., Cox, K. J., Blackburn, B. E., Wilkins, D. G., Carrell, D. T., Stanford, J. B., Porucznik, C. A. (2019). Male exposure to bisphenol A (BPA) and semen quality in the Home Observation of Periconceptional Exposures (HOPE) cohort. *Reproductive Toxicology*, 90. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.08.014>
- Presunto, M., Mariana, M., Lorigo, M., Cairrao, E. (2023). The Effects of Bisphenol A on Human Male Infertility: A Review of Current Epidemiological Studies. *International Journal of Molecular Sciences* (Sv. 24, Izdanje 15). <https://doi.org/10.3390/ijms241512417>
- Radwan, M., Wielgomas, B., Dziewirska, E., Radwan, P., Kałużny, P., Klimowska, A., Hanke, W., Jurewicz, J. (2018). Urinary Bisphenol A Levels and Male Fertility. *American Journal of Men's Health*, 12(6). <https://doi.org/10.1177/1557988318799163>
- Rahman, M. S., Kang, K. H., Arifuzzaman, S., Pang, W. K., Ryu, D. Y., Song, W. H., Park, Y. J., Pang, M. G. (2019). Effect of antioxidants on BPA-induced stress on sperm function in a mouse model. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47158-9>
- Rahman, M. S., Kwon, W. S., Karmakar, P. C., Yoon, S. J., Ryu, B. Y., Pang, M. G. (2017). Gestational exposure to bisphenol A affects the function and proteome profile of F1 spermatozoa in adult mice. *Environmental Health Perspectives*, 125(2). <https://doi.org/10.1289/EHP378>
- Rahman, M. S., Pang, M. G. (2019). Understanding the molecular mechanisms of bisphenol A action in spermatozoa. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine* (Sv. 46, Izdanje 3). <https://doi.org/10.5653/cerm.2019.00276>
- Rehan, M., Ahmad, E., Sheikh, I. A., Abuzenadah, A. M., Damanhour, G. A., Bajouh, O. S., Al Basri, S. F., Assiri, M. M., Beg, M. A. (2015). Androgen and progesterone receptors are targets for bisphenol a (BPA), 4-methyl-2,4-bis-(p-hydroxyphenyl)pent-1-ene-A potent metabolite of BPA, and 4-tert-octylphenol: A computational insight. *PLoS ONE*, 10(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138438>
- Rezaee-Tazangi, F., Zeidooni, L., Rafiee, Z., Fakhredini, F., Kalantari, H., Alidadi, H., Khorsandi, L. (2020). Taurine effects on bisphenol a-induced oxidative stress in the mouse testicular mitochondria and sperm motility. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, 24(4). <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20200017>
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology* (Sv. 42). <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
- Sabeti, P., Pourmasumi, S., Rahiminia, T., Akyash, F., Talebi, A. R. (2016). Etiologies of sperm oxidative stress. *International Journal of Reproductive BioMedicine* (Sv. 14, Izdanje 4). <https://doi.org/10.29252/ijrm.14.4.231>

- Santiago, J., Silva, J. V., Santos, M. A. S., Fardilha, M. (2021). Fighting bisphenol a-induced male infertility: The power of antioxidants. *Antioxidants* (Sv. 10, Izdanje 2). <https://doi.org/10.3390/antiox10020289>
- Susiarjo, M., Sasson, I., Mesaros, C., Bartolomei, M. S. (2013). Bisphenol A Exposure Disrupts Genomic Imprinting in the Mouse. *PLoS Genetics*, 9(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003401>
- Thayer, K. A., Doerge, D. R., Hunt, D., Schurman, S. H., Twaddle, N. C., Churchwell, M. I., Garantziotis, S., Kissling, G. E., Easterling, M. R., Bucher, J. R., Birnbaum, L. S. (2015). Pharmacokinetics of bisphenol A in humans following a single oral administration. *Environment International*, 83. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.008>
- Vandenberg, L. N., Hunt, P. A., Gore, A. C. (2019). Endocrine disruptors and the future of toxicology testing — lessons from CLARITY–BPA. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(6). <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0173-y>
- Varma, S., Molangiri, A., Kona, S. R., Ibrahim, A., Duttaroy, A. K., Basak, S. (2023). Fetal Exposure to Endocrine Disrupting-Bisphenol A (BPA) Alters Testicular Fatty Acid Metabolism in the Adult Offspring: Relevance to Sperm Maturation and Quality. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4). <https://doi.org/10.3390/ijms24043769>
- Völkel, W. V., Bittner, N., Dekant, W. (2005). Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*, 33(11). <https://doi.org/10.1124/dmd.105.005454>
- Wang, C., Qi, S., Liu, C., Yang, A., Fu, W., Quan, C., Duan, P., Yu, T., Yang, K. (2017). Mitochondrial Dysfunction and Ca²⁺ Overload in Injured Sertoli Cells Exposed to Bisphenol A. *Environmental Toxicology*, 32(3). <https://doi.org/10.1002/tox.22282>
- Wang, C., Zhang, J., Li, Q., Zhang, T., Deng, Z., Lian, J., Jia, D., Li, R., Zheng, T., Ding, X., Yang, F., Ma, C., Wang, R., Zhang, W., Wen, J. G. (2017). Low concentration of BPA induces mice spermatocytes apoptosis via GPR30. *Oncotarget*, 8(30). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16923>
- Wetherill, Y. B., Akingbemi, B. T., Kanno, J., McLachlan, J. A., Nadal, A., Sonnenschein, C., Watson, C. S., Zoeller, R. T., Belcher, S. M. (2007). In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reproductive Toxicology* (Sv. 24, Izdanje 2). <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.05.010>
- Woodruff, T. J. (2011). Bridging epidemiology and model organisms to increase understanding of endocrine disrupting chemicals and human health effects. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.11.007>

- Wu, H. J., Liu, C., Duan, W. X., Xu, S. C., He, M. Di, Chen, C. H., Wang, Y., Zhou, Z., Yu, Z. P., Zhang, L., Chen, Y. (2013). Melatonin ameliorates bisphenol A-induced DNA damage in the germ cells of adult male rats. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 752(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.01.005>
- Zhuang, W., Wu, K., Wang, Y., Zhu, H., Deng, Z., Peng, L., Zhu, G. (2015). Association of Serum Bisphenol-A Concentration and Male Reproductive Function among Exposed Workers. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 68(1). <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0078-7>
- Ziv-Gal, A., Flaws, J. A. (2016). Evidence for bisphenol A-induced female infertility: a review (2007–2016). *Fertility and Sterility* (Sv. 106, Izdanje 4). <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.06.027>

10. ŽIVOTOPIS

Zovem se Tara Čižmek, rođena sam 2003. godine u Zagrebu. Završila sam Osnovnu školu Tituša Brezovačkog, a zatim XV.gimnaziju, MIOC. Nakon završetka srednje škole upisala sam preddiplomski studij Molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu 2021. godine. Završila sam laboratorijsku stručnu praksu u laboratoriju za Molekularnu genetiku na Insitutu Ruđer Bošković. Tijekom prakse sudjelovala sam u istraživanju mehanizma gubitka pigmentacije špiljskih vrsta virnjaka.