# Epigenetski učinci bisfenola-A (BPA) u čovjeka

**Marković, Darija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:166:112924

*Rights / Prava:* In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-03-29**

*Repository / Repozitorij:*

Repository of Faculty of Science

Sveučilište u Splitu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za biologiju

Darija Marković

# EPIGENETSKI UČINCI BISFENOLA-A (BPA) U ČOVJEKA

Završni rad

Split, 2019.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom doc. dr. sc. Ivice Šamanića, predan je na ocjenu Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnica nutricionizma.

# IZJAVA

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom

**EPIGENETSKI UČINCI BISFENOLA-A (BPA) U ČOVJEKA**

izvodila samostalno pod voditeljstvom doc. dr. sc. Ivice Šamanića. U radu sam primijenila metodologiju znanstvenoistraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen standardni način citirala sam i povezala s fusnotama s korištenim bibliografskim jedinicama. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

Studentica

Darija Marković

**Temeljna dokumentacijska kartica**

Sveučilište u Splitu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Studij: Nutricionizam
Odjel za biologiju
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

Završni rad

**EPIGENETSKI UČINCI BISFENOLA-A (BPA) U ČOVJEKA**

**Darija Marković**

**SAŽETAK**

Različita istraživanja pokazala su kako okolina ima veliki utjecaj na organizam svakog živog bića. Promjene koje se javljaju kod potomaka, a zadržavaju se cijeli život, ukazuju na to kako su nastale promjene u transkripciji gena i kao takve potencijalno su stabilne. Na ekspresiju gena mogu utjecati svi okolišni faktori, pa tako i prehrana pojedinca, te prehrana majke za vrijeme trudnoće i dojenja. Pojedina hrana i tvari koje se mogu naći u prehrani mogu imati negativan, čak i fatalan učinak na žive organizme. Bisfenol A organski je spoj koji ima sposobnost otpuštanja svojih monomernih jedinica iz čvrste polimerne strukture (sirovina za izradu plastike), a pokazalo se da ima negativan učinak na zdravlje čovjeka i životinja čak i u malim koncentracijama. U ovome radu prikazani su rezultati istraživanja o učincima i mehanizmima, kojima bisfenol A djeluje na genom čovjeka.

.

**Ključne riječi:** modifikacije histona, ekspresija gena, bisfenol A, reprotoksin

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu.

**Rad sadrži:** 31 stranica, 10 slika, 6 tablica i 28 literaturnih navoda.

Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** Dr. sc. Ivica Šamanić, *docent Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*

**Ocjenjivači:**
**Dr.sc.Ivica Šamanić,** *docent Prirodoslovnog-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*
**Dr.sc. Jasna Puizina,** *redovita profesorica u trajnom zvanju Prirodoslovnog-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*
**Dr.sc.Željana Fredotović,** *docentica Prirodoslovnog-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu*

Rad prihvaćen: rujan, 2019.

**Basic documentation card**

University of Split
Faculty of Science
Study: Nutrition
Department of biology
Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

Bachelor's thesis

**EPIGENETIC EFFECTS OF BISPHENOL-A (BPA) ON HUMANS**

**Darija Marković**

## ABSTRACT

Recent studies have provided evidence that environmental conditions affect the biology of every living being. The induction of changes to the phenotype of the offspring, that persist throughout the lifespan, implies stable changes to gene transcription. Genetic expression can be influenced by various environmental factor including a person's nutritional needs as well as maternal nutrition during pregnancy and lactation. Some nutrients and toxic substances found in the food can have a negative, even fatal consequences on living organisms. Bisphenol A is an organic compound that is capable of releasing its monomer units from a solid polymeric structure (raw material for plastics) and has been shown to have a negative effect on human and animal health, even at low concentrations. This paper presents the results of a study on the effects and mechanisms by which bisphenol A influence on the human genome.

**Keywords:** histone modifications, gene expression, bisphenol A, reprotoxin

The thesis is deposited in the library of the Faculty of Science, University of Split.

**Thesis includes:** 31 pages, 10 figures, 6 tables and 28 references.

Original language: Croatian.

**Mentor: Ivica Šamanić, Ph.D.***Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*.

**Reviewers:**

**Ivica Šamanić, Ph.D.** *Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*

**Jasna Puizina, Ph.D.** *Full professor tenure of Faculty of Science, University of Split*

**Željana Fredotović, Ph.D.** *Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split*

Thesis accepted: September, 2019

**Sadržaj**

1. UVOD ..... 1
1.1. Cilj istraživanja ..... 2
2. RAZRADA TEME ..... 3
2.2. Epigenetika ..... 3
2.2.1. Uloga kromatina i histona u mehanizmima transkripcije i regulacije ekspresije gena ..... 6
2.2.2. Vrste kromatina ..... 7
2.2.3. Mehanizmi regulacije ekspresije gena ..... 8
2.3. Bisfenol A ..... 12
2.3.1. Kemijska i fizička obilježja ..... 12
2.3.2. Upotreba BPA ..... 14
2.3.3. Zastupljenost u prirodi i izloženost ljudskog organizma ..... 15
2.3.4. Tipovi plastike koji sadrže BPA ..... 17
2.4. Epigenetski utjecaj BPA ..... 19
2.4.1. Mehanizam djelovanja BPA ..... 19
2.4.2. Posljedice prekomjernog izlaganja BPA ..... 20
2.4.3. Utjecaj BPA na reproduktivni sustav čovjeka ..... 22
3. ZAKLJUČAK ..... 26
4. LITERATURA ..... 27
Mrežne stranice: ..... 30
Popis slika i tablica ..... 31

# 1. UVOD

Sva živa bića na Zemlji definirana su jedinstvenim genskim zapisom, uključujući njihov izgled, boju očiju, boju dlake, građu tijela, ali i podložnost nekim bolestima i slično. Tisuće malih molekula u sastavu DNA, zvanih nukleotidi, nalazi se unutar svih stanica svakog živog bića na Zemlji. Njihov specifični redoslijed stanici predstavlja informaciju, na temelju koje ona dalje stvara građevne elemente potrebne stanici i samom organizmu za normalno funkcioniranje, rast, razvoj i reprodukciju, a sami geni omogućuju i prijenos tih informacija sa roditeljskih stanica na stanice potomaka. Budući da geni u sebi nose zapis kako ćemo biti građeni, kako ćemo izgledati, kojim bolestima smo podložni i ostalo, jednostavno je pretpostaviti kako je cijela naša budućnost već predodređena i kako je utjecaj gena nemoguće izbjeći. Međutim, razvojem medicine, biokemije i genetike dokazano je da veliki utjecaj na gene ima i sama okolina i način života. Poznato je kako su geni podložni promjenama, a dokazano je i da neke promjene mogu nestati u sljedećim generacijama. Slikoviti primjer utjecaja okoline na gene su dvojajčani blizanci koji prilikom začeća nastaju iz jedne stanice koja se podijelila na dvije, što znači da oni prilikom rođenja imaju gotovo identičan genski zapis. Tijekom života kod dvojajčanih blizanaca mogu se opaziti čak i oku vidljive razlike između njih. Na primjer, ako se jedan od blizanaca cijeli život hranio u skladu sa potrebama njegovog organizma, a drugi je prekomjerno konzumirao brzu hranu („junk-food“), drugi blizanac ima prekomjernu tjelesnu masu, a samim tim i veću vjerojatnost obolijevanja od krvožilnih bolesti za razliku od svog brata blizanca koji se hranio zdravo.[1] Također, razvojem znanosti došlo se do zaključka kako razvoj bolesti kod pojedinih organizama može biti direktno povezan sa načinom života njihovih predaka. Tako na primjer, moguće je kako ljudi imaju veću vjerojatnost razvoja karcinoma pluća, iako nikada nisu bili u direktnom doticaju sa duhanskim dimom.[2] Danas je potvrđeno da ukoliko su njihovi preci bili strastveni pušači, to je moglo imati utjecaj na razvoj bolesti u njihovih potomaka.[2] Takve promjene nazivamo epigenetičkim promjenama i danas se smatraju reverzibilnima. Reverzibilne epigenetičke promjene direktno ne mijenjaju genetički zapis, nego djeluju na gensku ekspresiju genoma.

Ljudi kao i svi drugi organizmi na Zemlji svakodnevno su izloženi različitim vanjskim utjecajima čije djelovanje ostavlja trag na budućim generacijama. Pod vanjskim utjecajima

smatraju se prehrana, fizička aktivnost, konzumiranje alkohola i/ili opojnih droga, pušenje duhanskih proizvoda, izloženost stresu, izloženost raznim štetnim kemikalijama kako na poslu tako i u svakodnevnom životu, zagađenost okoliša, i ukupni način života.

Budući da je prehrana bitan i neizostavan čimbenik u životu svakog živog organizma, potrebno je posebno obratiti pozornost na mehanizme kojima ona može utjecati na modifikaciju DNA. Određeni sastojci u prehrani mogu imati pozitivne učinke na epigenom, kao na primjer smanjenje rizika nastanka kardiovaskularnih i neuroloških bolesti, tumora ili dijabetesa. Međutim, pojedini sastojci iz hrane ili tvari koje se nađu u prehrani čovjeka zbog načina pripreme, skladištenja, prijevoza i slično, mogu imati i nepoželjne učinke na epigenom ljudi, uzrokujući tako različite deformacije, bolesti i tumore..

Danas postoje brojne svjetske organizacije koje uz medicinu, toksikologiju i nutricionizam istražuju, dokazuju i definiraju tvari i supstance koje se mogu naći u okolišu i čovjekovoj okolini a mogu utjecati na zdravlje ljudi, životinja i okoliš. Njihov zadatak je odrediti u kojoj mjeri i na koji način neka tvar može utjecati na organizam, odrediti dozvoljene vrijednosti takvih tvari, obavijestit sve građane o njihovim saznanjima, te u slučaju pojavljivanja nepoželjnih tvari u hrani ili okolišu poduzeti mjere za uklanjanje tih tvari i spriječiti bilo kakvo daljnje širenje. Također, jedan od njihovih zadatak je upozoriti javnost ako dođe do takvih pojava. Jedna od tih organizacija je Svjetska zdravstvena organizacija WHO (engl. *World Health Organisation*) zadužena za regulaciju ispravnosti hrane, pića, hrane za životinje i tvari koji dolaze u doticaj sa hranom i pićem prilikom skladištenja, prijevoza, konzumiranja i sl.

## 1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je sažeti zaključke nekih provedenih studija na temu epigenetike, učinka bisfenola A na genom čovjeka, mehanizam njegova djelovanja, te posljedice izloženosti bisfenolu A za ljudski organizam.

## 2. RAZRADA TEME

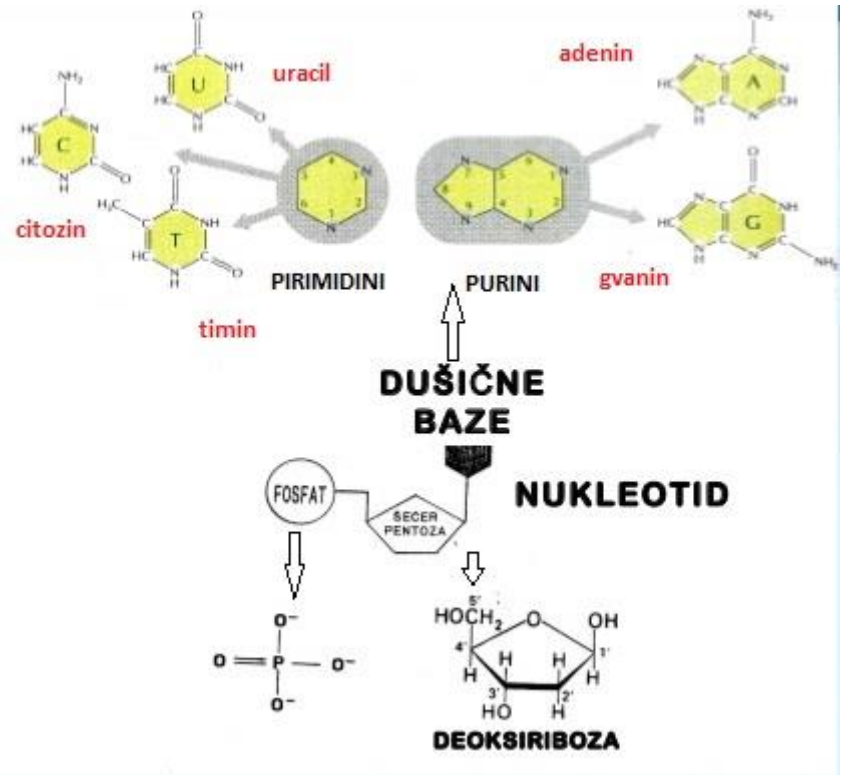
Iako je genetski zapis velikim dijelom odgovoran za genotip i fenotip organizma, utjecaj na njega imaju i brojni vanjski čimbenici. Epigenetski procesi omogućuju vanjskim utjecajima ostaviti biokemijski otisak (engl. *biochemical footprint*) na genomu, što znači da vanjski faktori koji dođu u doticaj sa organizmom i njegovim genomom mogu mijenjati gensku aktivnost, a da pritom ne mijenjaju sam genski zapis. Više o utjecaju okoliša na gen i mehanizmima kojima okolišni faktori utječu objašnjava nam epigenetika, grana znanosti koja se bavi proučavanjem svih potencijalno stabilnih nasljednih promjena u ekspresiji gena i fenotipa, nastalih pod utjecajem okoliša.

### 2.2. Epigenetika

Kao što smo na samom početku uvoda rekli, svako živo biće satkano je od mnogo molekula zvanih nukleotidi, koji svojim redoslijedom čine molekulu DNA, odnosno specifični genski zapis koji se prenosi sa roditeljske generacije na potomke. Deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxiribonucleic acid,* DNA), spiralno zavijena molekula nukleinske kiseline, osnovna je molekula nasljeđivanja i odgovorna za prijenos specifičnih osobina živih organizama. Podjedinice molekule DNA, nukleotidi, građeni su od šećera pentoze deoksiriboze, fosfatne skupine vezane na C-5 atom pentoze i jedne od dušičnih baza vezane na C-1 atom pentoze (Slika 1.). Dušične baze koje ulaze u sastav nukleotida prikazane su u Tablici 1.

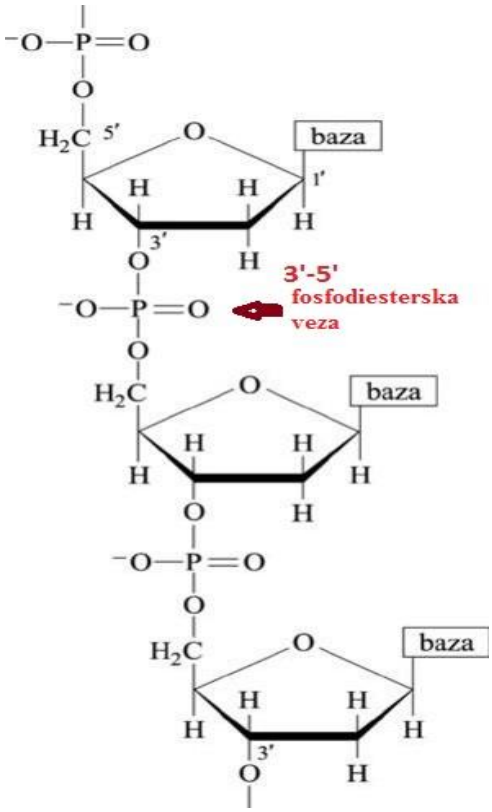
**Tablica1. Pregled dušičnih baza koje ulaze u sastav molekule DNA**

| | Građa dušične baze | Dušične baze | Skraćena oznaka |
|---|---|---|---|
| PURINI | Pirimidinski prsten + imidazolni prsten | Adenin | A |
| | | Gvanin | G |
| PIRIMIDINI | Pirimidinski prsten = heterociklički aromatski organski spoj sličan benzenu | Citozin | C |
| | | Uracil | U |
| | | Timin | T |




**Slika 1. Prikaz kemijske strukture dušičnih baza koje ulaze u sastav molekule DNA**(preuzeto sa https://www.slideshare.net/KatarinaCamber/replikacija-dna).

Nukleotidi su međusobno povezani 3'-5' fosfodiesterskom vezom, a sa susjednim antiparalelnim lancem povezani su vodikovim vezama. Takva struktura "ljestvi" spiralno je uvijena i čini molekulu DNA poput strukture dvostruke zavojnice. Struktura fosfodiesterske veze između nukleotida prikazana je na Slici 2.




**Slika 2. Prikaz 3'-5' fosfodiesterske veze kojom su povezane dvije dušične baze u molekuli DNA** (Modificirano nakon preuzimanja sa:**http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=44390**).

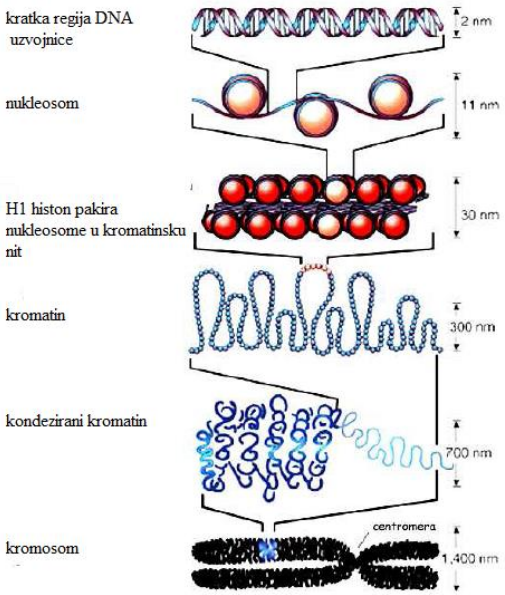
DNA je spiralno zavijena molekula, a spiralnu uzvojnicu čine dva lanca nukleinske kiseline, antiparalelno složena jedan uz drugi i međusobno povezana vodikovim vezama. Molekula DNA sadrži veliki broj nukleotida, tako niz od 5000- 1 000 000 nukleotida predstavlja tek jedan gen. Unatoč tome što je molekula DNA građena od velikog broja podjedinica i puno je duža od same stanice ( oko 1000 puta), ona ima sposobnost gustog pakiranja unutar stanice kako bi zauzimala što manji prostor. Geni su različite veličine i strukture, a genom čovjeka sadrži 20ak tisuća gena. Pod pojmom genom smatra se sveukupan genetički materijal stanice. Osim kodirajućeg slijeda nukleotida, spiralna uzvojnica nukleinskih kiselina sadrži još jedan dodatni sloj molekula čija je uloga kontrola izražaja gena.

Kako bi u daljnjem tekstu mogli objasniti mehanizme epigenetičkih promjena, u nastavku općeg dijela potrebno je definirati još pojmove kromatin, kromosom, histoni i njihovu ulogu u mehanizmima transkripcije i regulacije ekspresije gena. Kromatinom se naziva molekula dvolančane DNA i proteini (histoni i nehistonski proteini). Skraćivanjem kromatina nastaje kromosom. Kromosomi su po definiciji drugi pojavni oblik kromatina koji se u eukariotskoj stanici nalaze u jezgri stanice, ali nisu vidljivi u interfazi stanice jer su raspršeni, već su

mikroskopski vidljivi tijekom stanične diobe jer se tada spiraliziraju. Histoni su relativno mali bazični proteini sa visokom učestalošću pozitivno nabijenih aminokiselina lizin i arginin, što im omogućava čvršće vezanje za negativno nabijenu molekulu DNA. Histone dijelimo u 2 skupine: nukleosomalni histoni (H2A, H2B, H3, H4) i histon H1.

### 2.2.1. Uloga kromatina i histona u mehanizmima transkripcije i regulacije ekspresije gena

Histoni imaju ključnu ulogu u pakiranju, odnosno procesu kondenzacije molekule DNA kod eukariota, gdje se molekula DNA vrlo precizno i kompaktno savija u oblik kromosoma (Slika 3.). Osnovna jedinica pakiranja - nukleosom otkrivena je 1974., on nastaje namatanjem (1,8X) molekule DNK oko histonskog oktamera (formiraju ga nukleosomalni histoni, svaki zastupljen 2X, dakle 2x H2A, 2x H2B, 2x H3, 2x H4=8, zato se zove oktamer).[3] Jedan navoj oko histona sadrži oko 200 nukleotidnih parova molekule DNA. Nukleosomi se dalje kondenziraju pomoću histona H1, te tako nastaje struktura duljine 30 nm koju nazivamo kromatinsko vlakno. Daljnjom kondenzacijom nastaje vlakno dužine 300 nm, kojeg nazivamo solenoid, što zapravo predstavlja promjer interfaznog kromosoma. Maksimalna kondenzacija postignuta je u metafazi mitoze ili mejoze, kada su kromosomi maksimalno spiralizirani i kada najbolje možemo promatrati njihovu morfologiju. Tada je njihov promjer 1400 nm.




**Slika 3. Slikoviti prikaz mehanizma kondenzacije molekule DNA pomoću histona** (preuzeto sa http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/)

Kada bi se histoni uklonili iz kromosomske strukture ostala bi duga proteinska struktura koja izgleda poput skele. Tzv. 'skelu' izgrađuju nehistonski proteini, te oni sudjeluju u replikaciji, popravku i transkripciji. Za razliku od histonskih proteina koji su jako slični kod eukariotskih organizama, pa za njih možemo reći da su ostali očuvani ('konzervirani') kroz evoluciju, nehistonski proteini su vrlo različiti i razlikuju se po staničnom tipu unutar istog organizma, ali i između samih organizama. Nehistonskih proteina unutar jedne stanice ima oko 1000 različitih, prisutnih u vrlo malim količinama. Oni sudjeluju u višem stupnju organizacije kromatina, stoga i oni imaju važnu ulogu u regulaciji genske ekspresije.

### 2.2.2. Vrste kromatina

Vrste kromatina koje možemo razlikovati u stanici su:

1) Eukromatin- nukleoproteinske regije kromosoma koje su interfazi stanice dekondenzirane, što znači da su aktivne u transkripciji i one se u procesu transkripcije prepisuju na novu DNA, za razliku od heterokromatina koji je kondenziran i ne prepisuje se u transkripciji
2) Heterokromatin- gusto pakirane kromosomske regije koji je u interfazi inaktivan ili slabo aktivan, a možemo razlikovati:
   a) konstitutivni heterokromatin- vidljiv je u području centromere kromosoma, područje koje je važno za kretanje kromosoma tijekom diobe, inaktivan
   b) interkalarni heterokromatin – vidljiv je u području krakova kromosoma, vjerojatno aktivan tijekom interfaze

Važno je spomenuti kako su tehnike kromosomskog (G-, C- i R-) pruganja (engl. *Chromosome banding techniques*) omogućile uvid u kromosomsku strukturu (Tablica 2.). Tako možemo razlikovati dvije jasno odjeljenje domene, odnosno tri vrste kromatina koji nastaje u procesu pakiranja dvolančane DNA, te identificirati različite uloge koje te tri vrste kromatina imaju u procesu transkripcije, te ekspresije gena.

**Tablica 2. Prikaz vrsta kromatina koji se može uočiti pomoću tehnika pruganja i stanje kromatina u interfazi** (pruzeto sa : http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr).

| | Interkalarni heterokromatin | Konstitutivni heterokromatin | Eukromatin |
|---|---|---|---|
| Tip pruganja | G- pruganje | C- pruganje | R- pruganje |
| Položaj na kromosomu | Krakovi kromosoma | Centromera | Krakovi kromosoma |
| Stanje za vrijeme interfaze | Kondenzirano | Kondenzirano | Nekondenzirano |
| Genetička aktivnost | Vjerojatno aktivan | Neaktivan | Uglavnom aktivan |

### 2.2.3. Mehanizmi regulacije ekspresije gena

Budući da se molekula DNA tijekom života replicira, što zahtjeva prelazak u drugačiju strukturu, bitno je da se takvi procesi reguliraju staničnim mehanizmima, kako ne bi došlo do neželjenih promjena u organizaciji genoma, odnosno različitih mutacija. Zbog karakterističnog pakiranja molekule DNA u obliku kromatina, tijekom replikacije molekula se mora dekondenzirati i kondenzirati, što znači da se transkripcija mora regulirati tijekom tih procesa. Kod eukariota dakle, osim regulacije tijekom transkripcije postoji i regulacija na posttranskripcijskoj razini, iz razloga što eukariotska DNA, uz kodirajuće, sadrži još i nekodirajuće sekvence (introne). Transkripcija i translacija odvijaju se u različito vrijeme i u različitim dijelovima stanice. Transkripcija gena odvija se u jezgri, a translacija u citoplazmi. Takav način odvajanja ta dva procesa omogućuje stanici složenu regulaciju ekspresije gena, jer različiti elementi (u određenom vremenu i na određenom mjestu) ulaze u međusobnu interakciju, te omogućuju sintezu točno određene količine genskih produkata za funkcioniranje stanice, u odnosu na potrebe stanice.

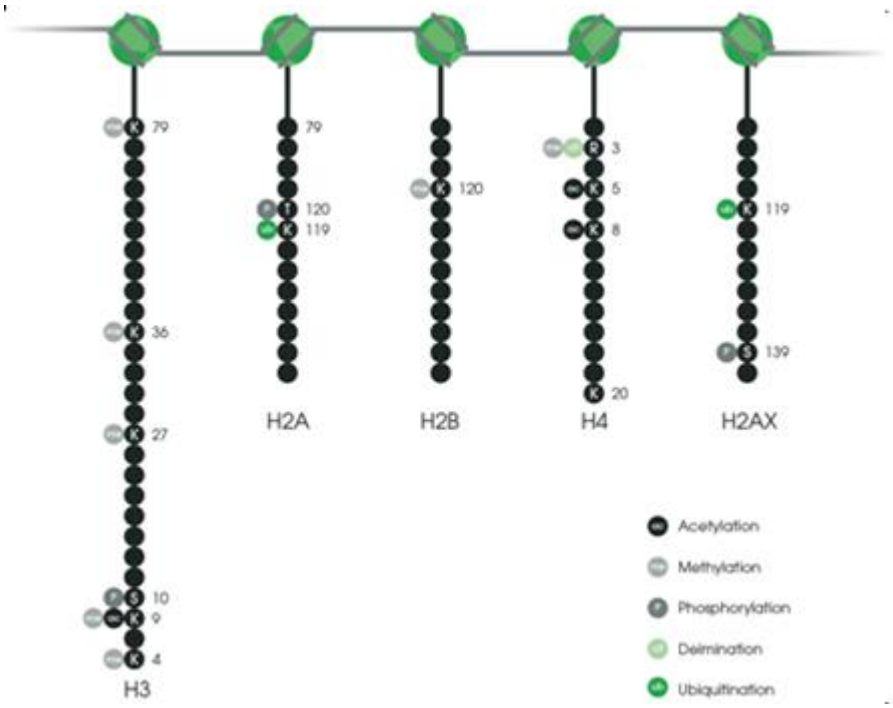
Tri mehanizma koja zajedno djeluju u regulaciji ekspresije gena su: metilacija DNA, modifikacija histona i RNA interferencija.

### 2.2.3.1. Ekspresija gena kontrolirana na razini inicijacije transkripcije

U regulaciji ekspresije gena kod eukariota važnu ulogu igra sama struktura kromatina i nukleosomi, dijelovi DNA pakirani pomoću histona. Što se tiče same strukture kromatina ona regulira ekspresiju gena na temelju stupnja kondenzacije kromatina. Točnije, dio molekule koji je gušće pakiran, odnosno pakira se u podjedinicu nukleosom pomoću histona, ima nisku razinu bazalne transkripcijske aktivnosti. S druge strane postoje regije kromatina sa niskim stupnjem kondenzacije, koje ne sadrže histone i nisu povezane u nukleosome, a koje nazivamo još nukleazna hipersenzitivna mjesta jer su područja osjetljiva na razgradnju nukleazama. Takve regije imaju visoku razinu bazalne transkripcijske aktivnosti i imaju važnu ulogu u transkripciji i replikaciji. Dakle, DNA pakirana sa histonima u nukleosome ima nižu stopu transkripcije od DNA bez nukleosoma. Međutim, veliki dio kromatina je u inaktivnom stanju, gdje se nukleosomi nalaze na promotorima gena i tako sprječavaju transkripciju. Stoga da bi počela transkripcija nekog gena treba doći do remodeliranja kromatina. Na transkripcijsku aktivnost kromatina možemo utjecati na dva načina: modifikacijom aminokiselina u histonskim proteinima (metilacija, acetilacija, ubikvitinacija, fosforilacija i dr.), (Slika 4.) ili metilacijom molekule DNA (metilacija podjedinica molekule DNA – nukleotida)

1. Modifikacija aminokiselina u histonskim proteinima: smatra se proces poput acetiliranja ili obrnuti proces deacetiliranja aminokiselina histonskih proteina (do danas, više od 60 modifikacija histona), pri čemu dolazi do inicijacije ili represije transkripcije, na način da acetilacija histona dovodi do slabijeg povezivanja DNA s histonima, što čini molekulu DNA dostupnu transkripcijskim faktorima i obrnuto, deacetilacija vodi do boljeg povezivanja DNA sa histonima i čini DNA nedostupnu transkripcijskim faktorima, te na taj način otežava transkripciju gena i čini regiju inaktivnom.
2. Metilacija baza u molekuli DNA uzrokuje inaktiviranje gena i čini ga nedostupnim transkripcijskim faktorima. DNA se metilira na citozinskim ostacima koji prethode gvaninima u polinukleotidnom lancu – tzv. CpG- dinukleotid. Takva metilacija nukleotida ne sprječava replikaciju molekule DNA, metilacija samo utišava aktivnost gena. Dakle geni mogu biti hipometilirani (aktivni), hipermetilirani (neaktivni) i demetilirani (selektivno aktivirani tijekom diferencijacije stanice).

Metilacija DNA ima specifičnu ulogu tijekom gametogeneze. Naime, spermij i jajna stanica, osim što imaju različite DNA, vremenom su njihove DNA postale specifično metilirane. Stoga, kada se njihove DNA 'spoje' u jednu novu, jedan gen mogao bi biti aktivan ili neaktivan ovisno o stupnju metilacije roditeljskih gena. Međutim, tijekom gametogeneze događa se proces demetilacije obje molekule DNA, te se nova nastala ponovno metilira ovisno o spolu jedinke. Metilacija gena naziva se još genomski utisak (engl. *genomic imprinting*), a kad je taj gen metiliran znači da je neaktivan (utisnuti geni, utišani, metilirani).




**Slika 4. Najčešće modifikacije histona.** Svaka od ovih modifikacija dodaje se ili uklanja s histonskih aminokiselina posebnim porodicom enzima (preuzeto sa: https://res.cloudinary.com/abcam/image/fetch/f_auto,q_auto,w_auto,dpr_auto/https://a.static-abcam.com/CmsMedia/Media/fig04epigeneticsguide2.jpg)

### 2.2.3.2. RNA interferencija

RNA interferencija je posttranskripcijski mehanizam modifikacije jednog ili više gena, tijekom kojeg modifikaciju izvršavaju male nekodirajuće dvolančane molekule RNA (engl. *double-stranded RNA*, dsRNA). Možemo razlikovati dvije vrste tih molekula: micro RNA (miRNA) i interferirajuće RNA (engl. *small interfering*, siRNA). One se mogu naći u stanici endogenim putem (rezultat dvosmjerne transkripcije i /ili transkripcije obrnuto ponovljenih sljedova) ili egzogeno (rezultat ulaska virusne dvolančane RNA u stanicu domaćina, iskidane

na dužinu 21-22 nukleotida). Nekodirajuće dvolančane molekule RNA vrlo dobro podešavaju ekspresiju gena, jer djeluju kao specifični modulatori, koji se temelje na specifičnosti stanice organizma nastale tijekom razvoja, kao i za vrijeme patoloških stanja. Pretpostavljeni mehanizmi RNA utišavanja uključuju sposobnost nekodirajuće RNA da negativno regulira ekspresiju ciljnih gena na posttranskripcijskoj razini, vezanjem na 3' –neprepisujuće regije ciljanih mRNA, što rezultira njihovom degradacijom.[2]

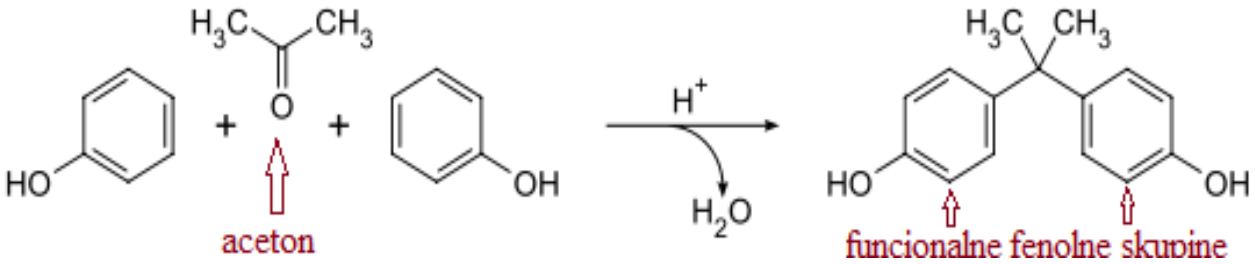
Svi geni svih stanica regulirani su navedenim mehanizmima regulacije ekspresije gena, a kao što je već rečeno, egzogeni učinci pokreću modifikaciju nasljednog materijala.

## 2.3. Bisfenol A

Bisfenol A (BPA) je organska molekula nastala kondenzacijom dvije molekule fenola sa acetonom od čega u njegovu nazivu potiče sufiks A. Ta molekula prirodno nije prisutna u okolišu, ali danas se u svijetu proizvede u ogromnim količinama. Bisfenol A se koristi kao sirovina u masovnoj proizvodnji u kemijskoj industriji polimera i u industriji hrane kao aditiv. Najveći dio proizvedene sirovine koristi se za proizvodnju plastike. Zbog velike i kontinuirane proizvodnje, te gomilanja otpada u prirodi nakon korištenja plastičnih proizvoda, možemo reći da je „pseudo“ postojan. To nam govori da organizam može biti izložen kemikaliji kronično, te tijekom osjetljivih životnih faza, što zasigurno ostavlja posljedice ne zdravlje organizma. Danas su svjetski stručnjaci svrstali bisfenol A u endokrine disruptore, štetne kemikalije koje narušavaju hormonski sustav čovjeka i izazivaju lavinu neželjenih medicinskih poremećaja.[4] Uz njega, u prirodi se danas mogu naći još tisuće antropogenih kemikalija, od kojih su brojne štetne za organizam i mogu uzrokovati različite fiziološke poremećaje.

### 2.3.1. Kemijska i fizička obilježja

BPA je organski spoj molekulske formule $C_{15}H_{16}O_2$. Po IUPAC-u nosi naziv 4,4' – dihidroksi -2,2 – difenilpropan. Kao što je već rečeno, nastaje kondenzacijom dvije molekule fenola uz dodatak acetona u suvišku, pri čemu je jedini nusprodukt voda, a cijela reakcija može se katalizirati adicijom klorovodične kiseline (Slika 5.). Stoga molekula BPA u svojoj strukturi sadrži dvije funkcionalne skupine fenola.




**Slika 5. Slikoviti prikaz reakcije kondenzacije molekule BPA iz dvije molekule fenola u prisutnosti acetona.** (Modificirano nakon preuzimanja sa: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/07/Synthesis_Bisphenol_A.svg/1920px-Synthesis_Bisphenol_A.svg.png)

**Tablica 3. Fizička obilježja BPA pri normalnim uvjetima.**

| | |
|---|---|
| Molekulska masa | 228.9 g/mol |
| Gustoća | 1.20 g/$cm^3$ |
| Faza | Krutina |
| Izgled | Prah bijele ili svijetlo smeđe boje |
| Talište | 158 ° C (430 K) |
| Vrelište | 220 ° C (493 K) |
| Topljivost u vodi | 120-300 ppm pri 21.5 ° C |
| Opasnost | Toksičan |

### 2.3.1.1. Migracija BPA iz polikarbonatne strukture

Molekula BPA je ključan monomer u proizvodnji poliepoksidnih smola i polikarbonata. Međutim, BPA nije inertna molekula i nije čvrsto vezan za materijal u kojem se nalazi, što mu omogućuje jednostavno otpuštanje iz strukture. Istraživači nisu znali da BPA može iscuriti iz plastike do 1993. i tek naknadne studije potvrdile su da se BPA može ispirati iz polikarbonata i epoksidnih smola.[4] Oslobađanjem BPA iz plastike, oslobađa se i njegov toksični učinak na organizam. Također, na brzinu otpuštanja BPA mogu utjecati brojni okolišni faktori kao što su: zagrijavanje, nepravilno skladištenje ili transport, izlaganje svjetlosti ili mikrovalnom zračenju, zasoljavnje ili zakiseljavanje prehrambenog sadržaja. U pravilu svi ti faktori samo povećaju brzinu migracije BPA iz strukture. Tako svaka tekućina, voda, sok ili pivo iz boce ili aluminijske limenke otapaju ambalažu, čime BPA postaje dio prehrane. Također, zbog jednostavne migracije BPA, danas su zagađene mnoge površinske, komunalne i procjedne vode, te spremnici za pitku vodu. Uz vodu, zagađene su i brojne obradive površine zemlje, jer se BPA jedno vrijeme koristio kao fungicid.

### 2.3.1.2. Toksično djelovanje BPA pri vrlo niskim koncentracijama

BPA je prvi put sintetiziran 1891. godine i njegova namjena je bila zamišljena kao sintetički estrogen.[5] Iako se BPA zbilja veže na receptore koji inače vežu estrogen, njegovo

djelovanje se pokazalo dosta slabim ( $\approx 10^3$ - $10^5$ puta manje nego prirodni steroid, estradiol), stoga su uporabu BPA zamijenili lijekom, dietilstilblestorom (skraćeno DES), koji je pokazao puno veće estrogene učinke od BPA.[4] Međutim, teratogena i kancerogena svojstva DES-a nedovoljno su poznata, a posljednja istraživanja ukazuju na to da ima utjecaj na histone i DNA metilaciju.[4] U vrijeme prvog sintetiziranja BPA, i dugo godina nakon, BPA nije bio proglašen hormonski aktivnom supstancom, a u međuvremenu se njegova uporaba masovno povećala u proizvodnji plastike i epoksidnih smola.[4] Stoga su u periodu od prvog sintetiziranja do danas, ljudi bili povećano izloženi utjecaju BPA, putem konzumiranja hrane i pića iz plastične ili limene ambalaže, konzumiranjem vode zagađene BPA-om i sl. Tek posljednjih desetljeća ponovno su se pokrenule debate o štetnom utjecaju čak i malih koncentracija BPA na reproduktivni sustav kod životinja i ljudi. Da bi istraživali štetan utjecaj BPA, znanstvenici su prvo trebali izmjeriti izloženost organizma tom ksenobiotiku i zagađivaču. S vremenom su se razvile metode detekcije BPA u organizmu, ali i dokazala toksična djelovanja te molekule.

### 2.3.2. Upotreba BPA

Do dana današnjeg, upotreba BPA raširila se mnogo i u više različitih područja. Kao što je već rečeno, na samim početcima proizvodnje, BPA je trebao biti korišten kao hormon estrogen. Njegova uloga sintetičkog hormona nije zaživjela zbog slabog djelovanja, ali su ga industrije polimera počele koristiti u proizvodnji polikarbonatne plastike i epoksilnih smola. U to vrijeme pojava plastične ambalaže bila je značajan napredak zbog samih svojstava plastike. Ona je prozirna, savitljiva, dovoljno čvrsta, za razliku od stakla teže se lomi, a samim tim olakšava i transport. Također, plastična ambalaža mnogo je lakša od staklene. Svi ti čimbenici velikim proizvođačima predstavljaju velike pogodnosti u korištenju plastike, npr. u odnosu na staklo. Tako danas plastiku, odnosno BPA, možemo naći u plastičnim bocama svih vrsta, aluminijskim limenkama, plastičnom kuhinjskom posuđu, ambalažama, plastičnim vrećicama za hranu, kućanskim aparatima, konzerviranoj hrani, plastičnim vodovodnim cijevima, elektroničkoj opremi, CD i DVD- diskovima, očnim lećama, naočalama, zubnim implatantima, građevinskom materijalu, umjetnoj koži i drugim odjevnim predmetima, posteljini, zavjesama u kupaonici, novčanicama, računima u trgovinama, papiru za kopiranje bez ugljika, tonerima, kozmetičkim proizvodima i brojnim drugim proizvodima. Porazna je činjenica da se BPA može naći i kao aditiv u proizvodima široke potrošnje kao stabilizator,

antioksidans ili inhibitor polimerizacije. Nadalje, BPA se jedno vrijeme koristio i kao fungicid.[4] Zbog jednostavne migracije BPA iz plastike, vode su dosta njime zagađene, jer se tvari za lijevanje, oblog od cjevovoda i spremnici za vodu izrađuju upravo od plastike.[4] Uz sve navedeno, potrebno je naglasiti kako BPA može vrlo jednostavno naći unutar konzervi hrane i pića, a pH vrijednost i sastav hrane može ubrzati njegovo otpuštanje iz strukture, čime se on direktno unosi u organizam, odnosno postaje sastavni dio prehrane.

### 2.3.3. Zastupljenost u prirodi i izloženost ljudskog organizma

Kako se s vremenom povećala potreba za prethodno navedenim proizvodima, tako se povećavala i proizvodnja BPA. Godine 1964. proizvodnja u SAD-u iznosila je 42 tone BPA. Do 2003. godine globalna proizvodnja BPA bila je 3.2 milijuna tona, od čega su dvije trećine proizvedene u SAD-u. Za 2011. godinu, pretpostavljalo se da će proizvodnja premašiti 5.5 milijuna tona.[4] Kada uzmemo u obzir količinu proizvodnje BPA u svijetu i njegovo svojstvo da se jednostavno otpušta iz strukture, može se zaključiti da je zastupljenost BPA u prirodi vrlo velika. Unatoč vrlo kratkom (2-4 dana) vremenu poluraspada[4], konstantna proizvodnja i potrošnja učinile su ga stalno prisutnim u okolišu. Veliki udio proizvedenog BPA završi u okolišu tijekom same proizvodnje, transporta i prenamjene u plastiku. Drugi način, kojim se BPA može naći u prirodi je putem otpada. Načini na koji ljudi svakodnevno utječu na koncentracije BPA u okolišu su putem otpadnih voda, izgaranjem plastičnog otpada kućanstava i prirodnim raspadom plastike koja završava u prirodi nakon upotrebe. Zbog blagih hidrofobnih svojstava molekule smatra se da su najveće koncentracije otopljene u vodama i u zemlji.[4] Od otkrića činjenice da plastika otpušta BPA, provedena su brojna mjerenja koja su utvrđivala koncentracije BPA u površinskim vodama i podzemnim vodama, pitkoj i morskoj vodi, te otpadnim vodama. Tako na primjer, rezultati pojedinih istraživanja pokazala su kako ispitivane površinske vode u SAD-u sadrže koncentracije BPA u rasponu od 0.147 do 12 μg/L.[4] U svim ispitivanim vodama koncentracije BPA varirale su ovisno o mjestu i dubini sa koje je uzet uzorak. Studije u kojima su uzorkovani i voda i tlo, pokazale su da su koncentracije BPA puno veće u tlu, nego u uzorcima vode uzetih sa površine.[4] Kada govorimo o zagađenosti zemlje, pokazalo se da na zadržavanje i biodostupnost BPA bitno utječe vrsta tla.[4] Izvor BPA u tlima posljedica su ispuštanja kanalizacijskog mulja ili biokrutina na zemljište.[4] Veće koncentracije BPA u zemlji, u odnosu na vodu, mogu se

objasniti produženim vremenom poluraspada molekule u anaerobnim uvjetima. Vrijeme poluraspada BPA u tlima izmjereno je: 3 dana, 7 dana i 37.5 dana.[4]

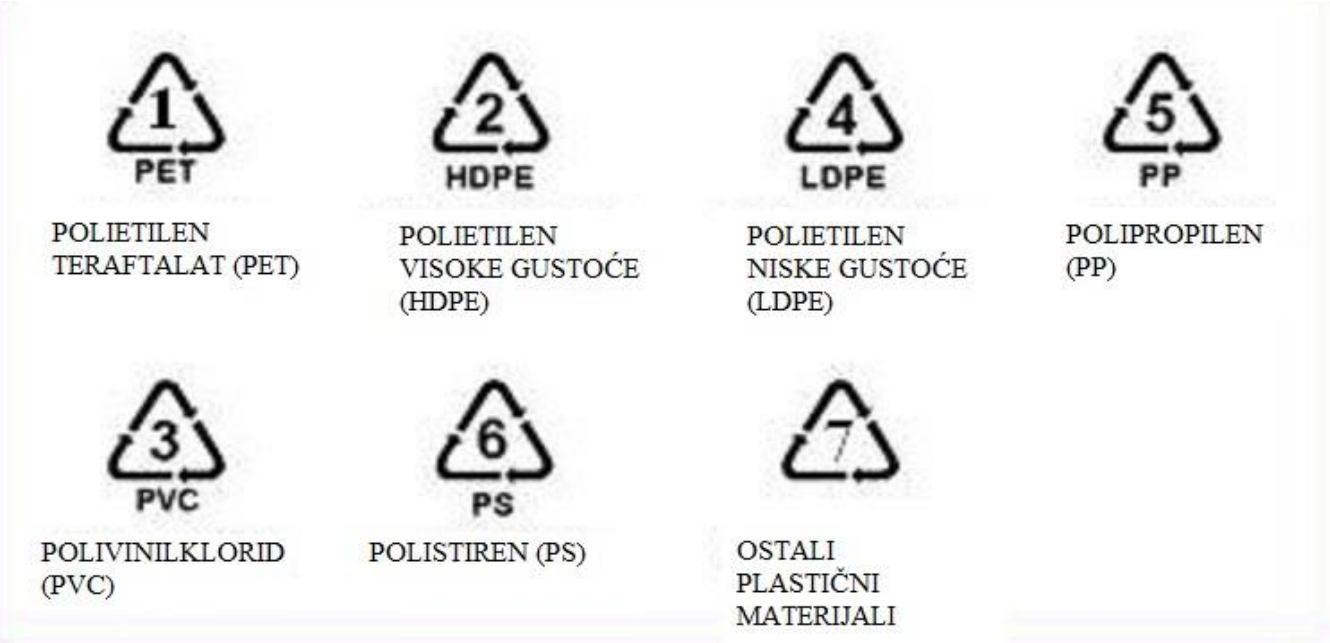
Većina BPA koji dospije u ljudski organizam unese se zapravo prehranom. Budući kako je plastična i limena ambalaža jeftina i praktična, mnoge razvijene zemlje koriste je u preradi hrane. Kao što je već rečeno, hrana i piće, zbog svojih karakteristika, mogu ubrzati otpuštanje BPA iz ambalaže. Stoga je prehrana bitan izvor kontaminacije BPA-om kod ljudi. Stručnjaci su s vremenom razvili metode kojima mogu pouzdano mjeriti koncentracije BPA u urinu, serumu i plazmi.[6] Da izmjerene koncentracije BPA u urinu potječu uglavnom iz prehrane pokazuju istraživanja, koja su proveli Carwille i sur.(2011)[7] na način da su sudionicima davali konzerviranu juhu 5 dana uzastopno. Svih 5 dana izmjerene vrijednosti BPA u urinu ispitanika koji su jeli konzerviranu juhu bile su za 100% povećane. Za razliku od njih, kod ispitanika koji su tih 5 dana jeli svježe pripremljenu juhu, nisu primijećene promjene u koncentracijama BPA u urinu.[6] U SAD-u, od 267 ispitivanih proizvoda, kao što su pića, mliječni proizvodi, masti i ulja, riba i morska hrana, žitarice, voće i povrće, 75% ih je sadržavalo značajne količine BPA, bisfenola S (BPS) ili bisfenola F (BPF).[6] U tom istraživanju, začini i ostala konzervirana hrana, imali su najveću koncentraciju BPA, a voće i povrće najmanju. Istraživanja provedena u Kini i Kanadi pokazuju slične rezultate.

**Tablica 4. Prikaz prosječne koncentracije BPA u urinu stanovnika pojedinih država** (preuzeto iz [8]).

| Države u kojoj su provedena mjerenja koncentracije BPA u urinu stanovnika | Prosječna koncentracija BPA u urinu |
|---|---|
| Norvežani | 4.5 μg/$dm^3$ |
| Nizozemci | 2.5 μg/$dm^3$ |
| Belgijanci | 2.55 μg/$dm^3$ |
| Amerikanci | 3.9 μg/$dm^3$ |

### 2.3.4. Tipovi plastike koji sadrže BPA

Danas u proizvodnji postoji više vrsta plastike koje se razlikuju po svome kemijskom sastavu. Na većini plastičnih proizvoda mogu se naći oznake (Slika 6.) u obliku trokuta (strelice koje se nastavljaju jedna na drugu predstavljaju proizvod koji se može reciklirati), koji u sebi sadrži broj i/ili skraćenu oznaku kemijskog spoja od kojeg je plastika načinjena.




**Slika 6. Vrste i oznake plastike koje se danas nalaze u uporabi** (Preuzeto sa https://net.hr/magazin/zdravlje/otrovi-u-vasem-domu-upoznajte-tipove-plastike-to-vam-moze-spasiti-zivot/).

Također, ovisno o vrsti plastike, različita je i njena namjena. Tako imamo plastiku namjenu za ambalažu prehrambenih proizvoda, ambalažu kozmetičkih proizvoda poput šampona za kosu, vrećice, igračke i sl. (Tablica 5.). Većina plastike nakon reciklaže koristi se za proizvodnju istih ili nekih novih proizvoda.

**Tablica 5. Vrste plastike i uporabe za svaku pojedinu vrstu** (Modificirano nakon preuzimanja sa https://www.ethicalhuman.co/the-seven-types-of-plastic/).

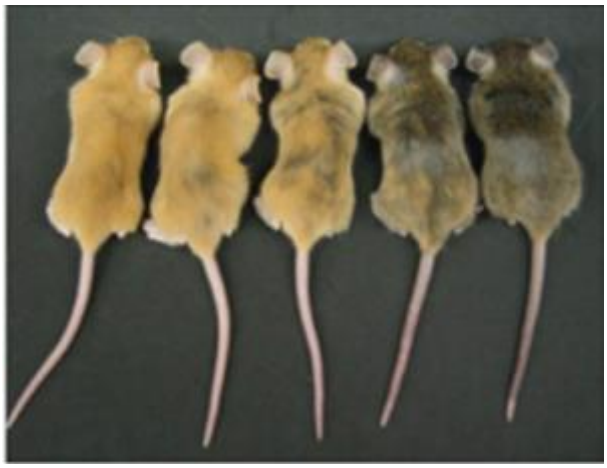
| Oznaka plastike | Sadrži BPA | Uporaba | Novi produkti nakon recikliranja |
|---|---|---|---|
| Tip 1 PET | Ne | Boce za gazirana pića i vodu, plastične čaše i tegle, plastične police za domaćinstvo, plastična ambalaža za hranu | Odjeća, zastori, boce za gazirana pića i vodu, plastična ambalaža za hranu |
| Tip 2 HDPE | Ne | Ambalaža za mlijeko, boce za deterdžente i šampone, posude za cvijeće, plastične vrećice za kupnju | Boce za deterdžent, posude za cvijeće, cijevi, brodski pod |
| Tip 3 PVC | Da | Vodovodne cijevi, prozirna ambalaža za hranu, plastične dječje igračke, stolnjaci, vinilni podovi, dječje prostirke i flasteri (medicinski) | Cijevi, zidne obloge, veziva, podloga za tepihe, podne obloge |
| Tip 4 LDPE | Ne | Vrećice za kruh, papirnati ručnici i omoti maramica, boce za istiskivanje sadržaja, vreće za smeće | Vreće za smeće, namještaj, poštanske koverte, kante za kompost |
| Tip 5 PP | Ne | Čašice za jogurt, šalice, boce za sok, slamke, vješalice za robu, vrećice za dostavu | Kante za boju, ležeći policajci, dijelovi auta, posude za hranu, vješalice za robu, posude za cvijeće, plastični dijelovi britvice |
| Tip 6 PS | Da | Posude za pakiranje hrane 'za van' i pribor za jelo, čaše za vrući sadržaj, britvice, omoti CD-ova, karton,poslužavnik | Okviri slika, ravnala, igračke, vješalice za robu, posude za cvijeće, vrpce za pričvršćivanje |
| Tip 7 OSTALO | Da | Najlon, zaštitne naočale, CD-ovi, boce, ABS, akril | Dijelovi za auto, dijelovi kućanske elektronike |

## 2.4. Epigenetski utjecaj BPA

U trenutku kada se BPA unese u organizam vrlo brzo se apsorbira kroz stjenke tankog crijeva i u jetri ga tijelo metabolizira u bisfenol A-glukuronid, koji se lako otapa u vodi i organizam ga jednostavno izbacuje putem urina.[6] Iako ovako konjugirani BPA ima ograničen utjecaj na organizam, zbog velike i kontinuirane izloženosti organizma ovom spoju, ima dugotrajne i štetne učinke na ljudsko zdravlje.

### 2.4.1. Mehanizam djelovanja BPA

Uporaba BPA kao sintetičkog hormona estrogena nije zaživjela zbog njegova slabog djelovanja kao hormon. Međutim, to nam govori da BPA u određenoj mjeri ipak ima učinak na hormonski sustav čovjeka. Smatra se da BPA utječe na hormonsku homostazu na više načina. Mehanizmi djelovanja BPA uključuju vezanje na membranske receptore za estrogen (mERs), vezanje za glukuronidne receptore, aktivaciju nuklearnog estrogenskog receptora gama (ERRy), suzbijanje transkripcije receptora hormona štitnjače, smanjenje transporta kolesterola kroz mitohondrijsku membranu, povećanje oksidacije masnih kiselina, stimulaciju otpuštanja prolaktina i smanjenje ekspresije aromataze.[5] Prve studije koje su dokazale epigenetske učinke BPA provedene su od strane Dolinoy i sur.[9], koji su koristili žutog miša[8] „Agouti viable“ (engl. *agouty gen,* gen $A^{vy}$) kao model.[8] Alel $A^{vy}$ miša određuje boju krzna, a reguliran je stupnjem metilacije tog gena. Tako krzno ima žutu boju kada je alel hipometiliran ili smeđu kada je hipermetiliran. U ovome pokusu, miševi smeđeg krzna ( hipermetiliran alel) bili su podvrgnuti dozama BPA. Njihovi potomci imali su krzno žute boje, što govori da se dogodila demetilacija na tom specifičnom genu (Slika 7.). Nadalje pokazalo se da izlaganje BPA tijekom trudnoće mijenja količine mRNA koja transkribira metiltransferaze 1 i 3A, odgovorne za regulaciju ekspresije gena koji kodiraju estrogene receptore.[8]



**Slika 7. Izloženost ženki miševa bisfenolu A izaziva promjenu u žutu boju dlake potomaka.** Genetički identično $A^{vy}$/a potomstvo pokazuje fenotipsku varijaciju u boji dlake (preuzeto iz [9])

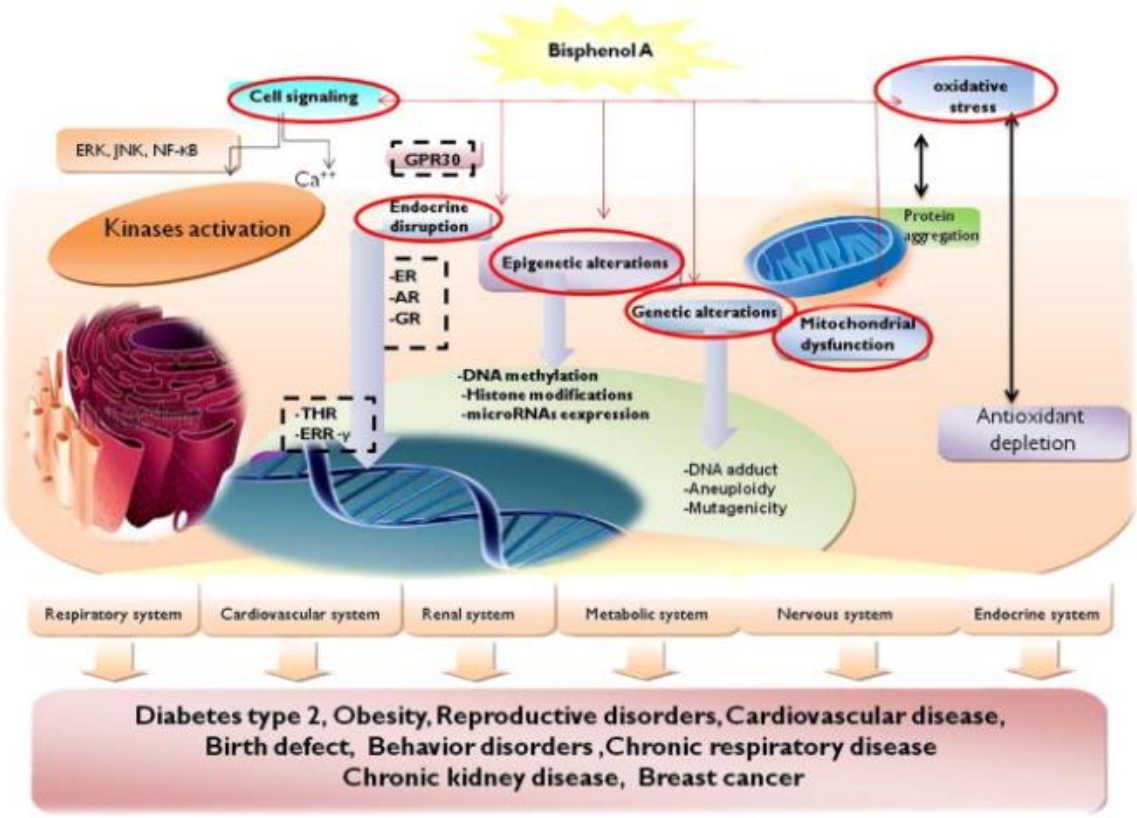
Od trenutka kad je dokazano djelovanje BPA na receptore za estrogen (engl. *estrogen receptors,* ERs), započela su opsežna istraživanja tog spoja na ljudski organizam. Estrogen-receptori se smatraju iznimno važnima kada pričamo o epigenetskim učincima jer mogu provoditi genomsku i negenomsku transdukciju signala. Genomskom transdukcijom smatra se proces putem kojeg estrogen receptori reguliraju transkripciju, pa samim tim i ekspresiju gena. Postnatalno izlaganje BPA također ima utjecaj na estrogene receptore, uzrokujući tako poremećaje u razvoju, te neplodnost kod žena i muškaraca. Studije pokazuju da BPA (5 μg/L) mogu potaknuti apoptozu (odumiranje stanice) zrelih folikula i ometati proces oogeneze putem deregulacije gena koji su važni za estrogen receptor.[8]

Kao što je već rečeno BPA može utjecati na specifične gene i uzrokovati specifične promjene u organizmu, ali također ima sposobnost za cjelokupnu demetilaciju DNA, te na taj način ima utjecaj i na histone (utjecaj na histone je, također, povezan sa povećanjem ekspresije mRNA). Cjelokupni učinak BPA odrazio se najviše na reproduktivni sustav kod žena i na zdravlje ploda *in utero,* koji je tada najosjetljiviji.[6]

### 2.4.2. Posljedice prekomjernog izlaganja BPA

Kada spomenemo učinak BPA na zdravlje čovjeka, najviše se povezuje sa negativnim utjecajem na reproduktivni sustav. Godine 2016. Europska komisija prihvatila je dokument Europske agencije za kemikalije (engl. *Europian Chemicals Agency,* ECHA), u kojem se BPA

proglašava reprotoksinom, tvarima koje uzrokuju oštećenja ploda, neplodnost i druge spolne malformacije. Naknadno je svrstan i u endokrine disruptore, hormonske otrove koji utječu na hormonsku ravnotežu čovjeka, uzrokujući brojne poremećaje. Osim utjecaja na reproduktivni sustav, izloženost bisfenolu A (Slika 8.), povezuje se i sa razvojem kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa, pretilosti, rakom dojke i prostate, hepatotoksičnosti, pa čak i depresije.[6]




**Slika 8. Potencijalno štetan utjecaj BPA na ljudski razvoj i indukciju kroničnih bolesti čovjeka** (Preuzeto iz [10] ).

Mehanizmi nastanka tih bolesti još nisu dokazani, ali smatra se da BPA epigenetskim putem doprinosi nastanku takvih poremećaja (Tablica 6) .

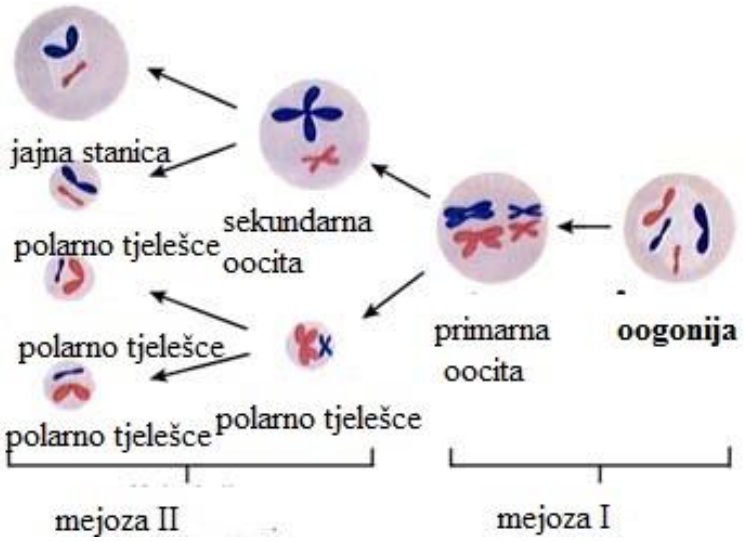
**Tablica 6. Epidemiološke studije koje povezuju učinak BPA s pojavom bolesti u ljudi (**Preuzeto iz [10]).

| **Poremećaji koje BPA uzrokuje kod čovjeka** | **Uočeni učinak** | **Bibliografski navodi** |
|---|---|---|
| Dijabetes tipa 2 | Izloženost bisfenolu A utječe na metabolizam glukoze. | [11][12] |
| Pretilost | BPA može uzrokovati pretilost ometajući sinapse neurona koji reguliraju apetit ili utjecajem na diferencijaciju adipocita. | [13] |
| Kardiovaskularni poremećaji | Laboratorijske abnormalnosti koje odražavaju kardiovaskularne dijagnoze za dob i spol, te rizik od teških stenoza koronarnih arterija. | [14] |
| Poremećaji u reproduktivnom sustavu | Rizik od teške disfunkcije muškaraca i žena. | [15] |
| | Rizik od prijevremenog i ponavljajućeg pobačaja. | [16][17] |
| Kronični poremećaji u radu bubrega | Utjecaj na funkciju bubrega. | [18] |
| Poremećaji u razvoju i urođene mane | BPA utječe na kvalitetu embrija tijekom *in vitro* oplodnje (engl. *In vitro fertilization,* IVF) kod muškaraca. | [19][20] |
| | BPA utječe na kvalitetu oocita tijekom IVF kod žena. | [21] |
| | *In utero* izlaganje BPA može poremetiti normalan razvoj genitalija muškaraca. | [22] |
| | Prenatalna izloženost povezana je sa mogućnošću oštećenja ploda. | |
| Bolesti dišnog sustava | Rizik obolijevanja od astme kod djece. | [23] |
| Poremećaji u ponašanju i izvršavanju radnji | Izloženost BPA-u u ranim životnim fazama utječe na ponašanje i sposobnost izvršavanja radnji. | [24][25] |
| Rak | Rizik od hiperplazije endometrija i raka endometrija. | [26] |
| | Rizik od raka dojke. | [27] |
| Autoimune bolesti | Negativan utjecaj BPA na imunološki sustav čovjeka. | [28] |

### 2.4.3. Utjecaj BPA na reproduktivni sustav čovjeka

Žene su rođene sa određenim brojem jajnih stanica (oocita), te se one tijekom života troše i njihov broj opada. Oocite se ne mogu nanovo stvarati tijekom života. Kroz tri faze

oogeneze (proliferaciju, rast i sazrijevanje), nastaju jajne stanice kod ženki diploidnih organizama (Slika 9.).




**Slika 9. Oogeneza, razvitak jajnih stanica.** Iz jedne stanice oogonija, u mejozi I i mejozi II, nastaju 4 stanice (1 jajna stanica i 3 polarna tjelešca)**.** **(**Modificirano nakon preuzimanja sa https:// https://www.bionet-skola.com/w/Oogeneza)

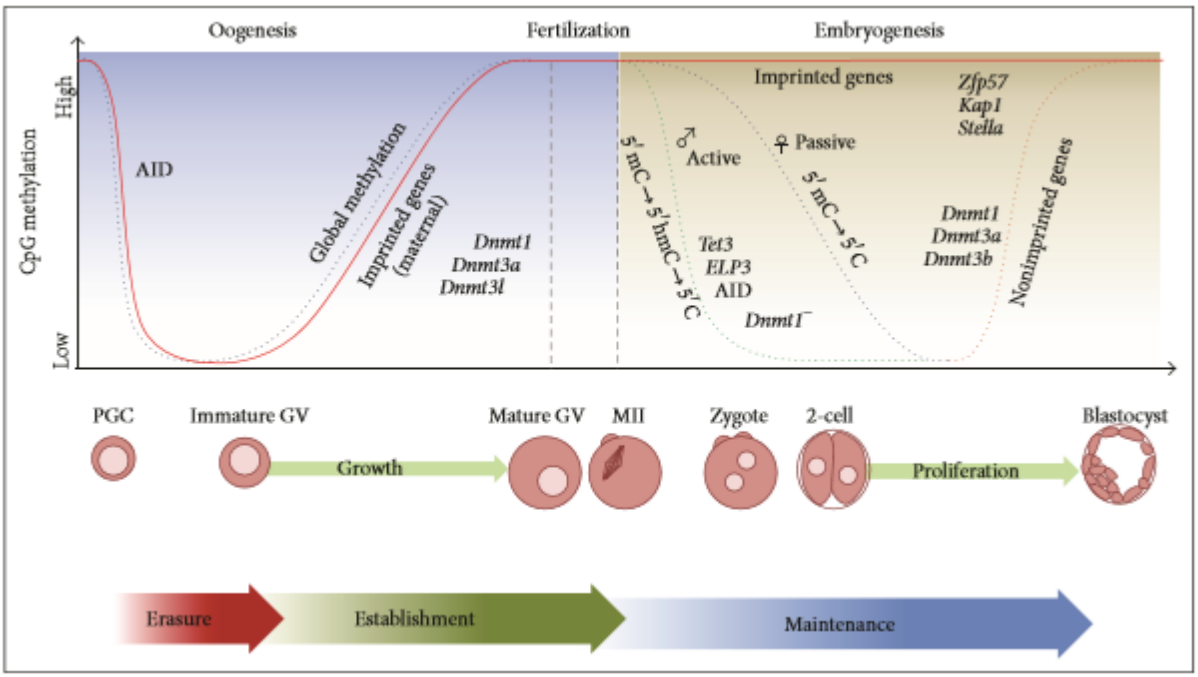
Već u 6. mjesecu trudnoće, u jajnicima fetusa nalazi se konačan broj primarnih oocita, koje poslije toga velikim dijelom propadaju. Primarne oocite tijekom oogeneze ulaze u dvije faze zaustavljanja, a jajna stanica sazrijeva do kraja samo ako se oplodi. U suprotnome, ona propada. Kod sisavaca, stanice oocita pripadaju dugoživućim stanicama u organizmu. Smatra se kako BPA ima negativa utjecaj na kvalitetu jajnih stanica kod ljudi i životinja.[5] Izloženost miševa, od sredine gestacije do rođenja, dnevnim dozama BPA (400 ng), rezultiralo je sinaptičkim nepravilnostima i povećanoj brzini rekombinacije među homolognim kromosomima oocita.[5] Isti učinak proizveo je ciljani poremećaj gena koji kodira receptor za estrogen β.[5] Također, povećana rekombinacija primijećena je kod rezus majmuna (lat. *Macaca mulatta*), prenatalno izloženog bisfenolu A kao i u humanih oocita *in vitro* tretiranih bisfenolom A.[5] Štoviše, u ljudskim fetalnim oocitama, izloženom BPA izmijenjena je ekspresija gena koji su uključeni u rekombinaciju i popravljanje DNA.[5] Izmijenjena rekombinacija u fetalnim oocitama sugerira kako bi žensko potomstvo majki, koje su bile izložene bisfenolu A, moglo imati povećan rizik nerazdvajanja kromosoma tijekom mejoze.

Nadalje, pokazalo se kako BPA izaziva promijene u sazrijevanju folikula. Naime, nakon rođenja, nakupine oocita se "razbijaju", te se iz sloja debelih granuloznih stanica, koje se

nalaze oko oocita, formiraju folikuli. Zreli folikuli sadrže po jednu zrelu jajnu stanicu. Kod resus majmuna, kronična izloženost bisfenolu A, tijekom gestacije, uzrokovala je kod potomaka značajno povećanje broja abnormalnih folikula, koji su sadržavali više od jedne oocite.[5] Na kraju, tretiranje *in vitro* humanih oocita niskim koncentracijama BPA, uzrokovalo je povećanu učestalost degeneracije oocita.[5] Budući da su sve oocite formirane već u fetalnom jajniku, bilo kakvi poremećaji u mejozioocita ili formiranju folikula, potaknuti bilo kojim mehanizmom, mogu pridonijeti preuranjenoj iscrpljenosti jajnika (engl, *premature ovarian insufficiency,* POI). Uz to, pravilnost segregacije kromosoma, u prvoj i drugoj mejozi, može biti ugrožena kada su jajnici prerano iscrpljeni. Također, neke studije provedene na ženama koje su liječile neplodnost ili bile podvrgnute umjetnoj oplodnji, pokazale su povezanost mokraćne razine BPA i negativan učinak na broj i kvalitetu oocita.[5] Za serumske koncentracije BPA, to nije potvrđeno.

Nadalje, oogeneza kroz sve svoje faze podrazumijeva duboke epigenetske promjene (Slika 10). Nakon što se cijela DNA demetilira, kod žena se postavlja specifičan genomski utisak, tijekom razvoja oocita. Cijeli proces je gotov prije nastanka mejoze. Zigota i rani preimplantacijski embrio, podvrgnuti su ekstenzivnoj pregradnji DNA, te promjeni metilacije DNA (hidroksimetilacija i demetilacija kod mužjaka), te demetilacija (ženskog kromatina).

Remodeliranje i epigenetske promjene kod muškog i ženskog kromatina, nastavljaju se prema visoko reguliranom programu određenom za spol. Greške u genomskom "imprintingu", histonskom uzorku ili kromatinskoj konformaciji mogu pridonijeti epigenetskim bolestima, kao što su Angelman ili Russellsilver sindromi, te mogu predisponirati sljedeće dvije generacije potomaka bolestima poput raka i drugih.[5]




**Slika 10. Kritične faze tijekom epigenetskog reprogramiranja kromatina u zametnim stanicama žene** (preuzeto iz [5]).

## 3. ZAKLJUČAK

U prirodi danas možemo naći tisuće antropogenih kemikalija, od kojih su većina dokazano štetne. Jedna od njih je i bisfenol A (BPA), glavna sirovina u proizvodnji plastike. Od trenutka kada je BPA sintetiziran, pa sve do danas, proizvedene se milijarde tona plastike godišnje. Taj jednokratni proizvod pogodan je zbog svoje čvrstoće, prozirnosti, mogućnosti oblikovanja, trajnosti i smanjenoj lomljivosti. Iako pogodna za uporabu, plastika ima manu otpuštanja svojih sastavnih jedinica u okolinu, pa i u sadržaj koji se nalazi u samoj plastici, npr. hrana ili piće. Štoviše, sve takve tvari samo ubrzavaju proces otpuštanja BPA. Bježanjem iz svoje polimerne strukture, BPA dospijeva u našu hranu, piće i okoliš. Smatra se da je čovjek najvećim dijelom izložen toj kemikaliji putem prehrane. Iako ga ljudski organizam brzo metabolizira, čak i kratka izloženost ostavlja negativne posljedice na zdravlje, a zbog svakodnevne uporabe možemo biti izloženi kronično. BPA utjecajem na ekspresiju gena, najjače stvara poremećaje u hormonskom sustavu ljudi i životinja, ali uzrokuje i niz drugih poremećaja u radu organizma. Može uzrokovati neplodnost, deformacije fetusa, poremećaje u reproduktivnom sustavu, ali i druge zdravstvene probleme. Do danas su pokrenute brojne debate na temu utjecaja BPA, napravljena brojna istraživanja, pa je on na kraju i proglašen toksičnim, te se pokušava što više zamijeniti drugim kemikalijama. Nažalost još uvijek je u uporabi, i to i dalje u plastici koja se koristi kao ambalaža za hranu i piće, a i neke nove tvari koje se koriste u zamjenu za BPA, pokazuju slično, pa čak i jače djelovanje na ljudski organizam.

## 4. LITERATURA


[1] C. Campbell, „Kineska studija o prehrani“, 2004.

[2] R. R. Kanherkar, N. Bhatia-Dey, i A. B. Csoka, „Epigenetics across the human lifespan“, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, sv. 2, izd. SEP. Frontiers Media S.A., 09-ruj-2014.

[3] M. Pavlica, „Mrežni udžbenik iz genetike“, 2012. [Na internetu]. Dostupno na: http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/.

[4] S. Flint, T. Markle, S. Thompson, i E. Wallace, „Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective“, *Journal of Environmental Management*, sv. 104. str. 19–34, 15-kol-2012.

[5] U. Eichenlaub-Ritter i F. Pacchierotti, „Bisphenol a effects on mammalian oogenesis and epigenetic integrity of oocytes: A case study exploring risks of endocrine disrupting chemicals“, *BioMed Research International*, sv. 2015. Hindawi Publishing Corporation, 2015.

[6] G. Mileva, S. L. Baker, A. T. M. Konkle, i C. Bielajew, „Bisphenol-A: Epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior“, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, sv. 11, izd. 7. MDPI AG, str. 7537–7561, 22-srp-2014.

[7] J. L. Carwile i K. B. Michels, „Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003–2006“, *Environmental Research*, sv. 111, izd. 6, str. 825–830, kol. 2011.

[8] S. Santangeli, F. Maradonna, I. Olivotto, C. C. Piccinetti, G. Gioacchini, i O. Carnevali, „Effects of BPA on female reproductive function: The involvement of epigenetic mechanism“, *General and Comparative Endocrinology*, sv. 245, str. 122–126, svi. 2017.

[9] D. C. Dolinoy, D. Huang, i R. L. Jirtle, „Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early development“, 2007.

[10] R. Rezg, S. El-fazaa, N. Gharbi, i B. Mornagui, „Bisphenol A and human chronic diseases : Current evidences , possible mechanisms , and future perspectives“,

*Environment International*, sv. 64, str. 83–90, 2014.

[11] A. Shankar i S. Teppala, „Relationship between Urinary Bisphenol A Levels and“, sv. 96, izd. December, str. 3822–3826, 2011.

[12] M. K. Silver, M. S. O'Neill, M. R. Sowers, i S. K. Park, „Urinary Bisphenol A and Type-2 Diabetes in U.S. Adults: Data from NHANES 2003-2008“, *PLOS ONE*, sv. 6, izd. 10, str. e26868, lis. 2011.

[13] R. Bhandari, J. Xiao, i A. Shankar, „Original Contribution Urinary Bisphenol A and Obesity in US Children“, sv. 177, izd. 11, str. 1263–1270, 2013.

[14] I. A. Lang, T. S. Galloway, A. Scarlett, W. E. Henley, M. Depledge, i R. B. Wallace, „Association of Urinary Bisphenol A Concentration With Medical Disorders and Laboratory Abnormalities in Adults“, sv. 300, izd. 11, str. 1303–1310, 2008.

[15] T. Galloway, R. Cipelli, J. Guralnik, L. Ferrucci, S. Bandinelli, i A. M. Corsi, „Daily Bisphenol A Excretion and Associations with Sex Hormone Concentrations : Results from the InCHIANTI Adult Population Study“, sv. 118, izd. 11, str. 1603–1608, 2010.

[16] D. Cantonwine *i ostali*, „Bisphenol a exposure in Mexico City and risk of prematurity: a pilot nested case control study“, *Environmental Health*, sv. 9, izd. 1, str. 62, 2010.

[17] M. Sugiura-ogasawara, Y. Ozaki, S. Sonta, T. Makino, i K. Suzumori, „Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage“, sv. 20, izd. 8, str. 2325–2329, 2005.

[18] D. H. Krieter, „Bisphenol A in Chronic Kidney Disease“, *Volume 37*, 2013. [Na internetu]. Dostupno na: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1525-1594.2012.01556.x.

[19] M. S. Bloom, F. S. vom Saal, D. Kim, J. A. Taylor, J. D. Lamb, i V. Y. Fujimoto, „Serum unconjugated bisphenol A concentrations in men may influence embryo quality indicators during in vitro fertilization“, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, sv. 32, izd. 2, str. 319–323, 2011.

[20] V. Y. Fujimoto, D. Kim, F. S. vom Saal, J. D. Lamb, J. A. Taylor, i M. S. Bloom, „Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization“, *Fertility and Sterility*, sv. 95, izd. 5, str.

1816–1819, 2011.

[21] M. Miao *i ostali*, „In utero exposure to bisphenol-A and anogenital distance of male offspring“, *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*, sv. 91, izd. 10, str. 867–872, 2011.

[22] W. Chou, J. Chen, C. Lin, Y. Chen, F. Shih, i C. Chuang, „Biomonitoring of bisphenol A concentrations in maternal and umbilical cord blood in regard to birth outcomes and adipokine expression : a birth cohort study in Taiwan“, *Environmental Health*, sv. 10, izd. 1, str. 94, 2011.

[23] A. J. Spanier, R. S. Kahn, A. R. Kunselman, R. Hornung, Y. Xu, i A. M. Calafat, „Research | Children ' s Health Prenatal Exposure to Bisphenol A and Child Wheeze from Birth to 3 Years of Age“, izd. 6, str. 916–920, 2012.

[24] J. M. Braun, K. Yolton, K. N. Dietrich, R. Hornung, X. Ye, i A. M. Calafat, „Research | Children ' s Health Prenatal Bisphenol A Exposure and Early Childhood Behavior“, sv. 117, izd. 12, str. 1945–1952, 2009.

[25] A. J. M. Braun i E. Amy, „Impact of Early-Life Bisphenol A Exposure on Behavior and Executive Function in Children“, sv. 128, izd. 5, str. 873–882, 2019.

[26] E. Journal i H. G. Hospital, „Differences in Serum Bisphenol A Concentrations in Premenopausal Normal Women and Women with Endometrial Hyperplasia“, sv. 51, izd. 6, str. 595–600, 2004.

[27] Y. J. Yang *i ostali*, „Bisphenol A exposure is associated with oxidative stress and inflammation in postmenopausal women“, *Environmental Research*, sv. 109, izd. 6, str. 797–801, 2009.

[28] E. M. R. Clayton, M. Todd, J. B. Dowd, i A. E. Aiello, „The Impact of Bisphenol A and Triclosan on Immune Parameters in the“, izd. 3, str. 390–396, 2011.

**Mrežne stranice:**

https://www.slideshare.net/KatarinaCamber/replikacija-dna

https://res.cloudinary.com/abcam/image/fetch/f_auto,q_auto,w_auto,dpr_auto/https://a.static-abcam.com/CmsMedia/Media/fig04epigeneticsguide2.jpg

https://www.ethicalhuman.co/the-seven-types-of-plastic/

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/07/Synthesis_Bisphenol_A.svg/1920px-Synthesis_Bisphenol_A.svg.png

http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=44390

https://net.hr/magazin/zdravlje/otrovi-u-vasem-domu-upoznajte-tipove-plastike-to-vam-moze-spasiti-zivot/

https://adriaticmedianethr.files.wordpress.com/2015/09/oznake_plastike.jpg?quality=100&strip=all

http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr

https://www.bionet-skola.com/w/Oogeneza

**Popis slika i tablica**

Slika 1. Prikaz kemijske strukture dušičnih baza koje ulaze u sastav molekule DNA(preuzeto sa https://www.slideshare.net/KatarinaCamber/replikacija-dna). ..... 4
Slika 2. Prikaz 3'-5' fosfodiesterske veze kojom su povezane dvije dušične baze u molekuli DNA (Modificirano nakon preuzimanja sa:http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=44390). ..... 5
Slika 3. Slikoviti prikaz mehanizma kondenzacije molekule DNA pomoću histona (preuzeto sa http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr/) ..... 6
Slika 4. Najčešće modifikacije histona. Svaka od ovih modifikacija dodaje se ili uklanja s histonskih aminokiselina posebnim porodicom enzima (preuzeto sa: https://res.cloudinary.com/abcam/image/fetch/f_auto,q_auto,w_auto,dpr_auto/https://a.static-abcam.com/CmsMedia/Media/fig04epigeneticsguide2.jpg) ..... 10
Slika 5. Slikoviti prikaz reakcije kondenzacije molekule BPA iz dvije molekule fenola u prisutnosti acetona. (Modificirano nakon preuzimanja sa: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/0/07/Synthesis_Bisphenol_A.svg/1920px-Synthesis_Bisphenol_A.svg.png) ..... 12
Slika 6. Vrste i oznake plastike koje se danas nalaze u uporabi (Preuzeto sa https://net.hr/magazin/zdravlje/otrovi-u-vasem-domu-upoznajte-tipove-plastike-to-vam-moze-spasiti-zivot/). ..... 17
Slika 7. Izloženost ženki miševa bisfenolu A izaziva promjenu u žutu boju dlake potomaka. Genetički identično $Avy/$a potomstvo pokazuje fenotipsku varijaciju u boji dlake (preuzeto iz [9]) ..... 20
Slika 8. Potencijalno štetan utjecaj BPA na ljudski razvoj i indukciju kroničnih bolesti čovjeka (Preuzeto iz [10] ). ..... 21
Slika 9. Oogeneza, razvitak jajnih stanica. Iz jedne stanice oogonija, u mejozi I i mejozi II, nastaju 4 stanice (1 jajna stanica i 3 polarna tjelešca). (Modificirano nakon preuzimanja sa https:// https://www.bionet-skola.com/w/Oogeneza) ..... 23
Slika 10. Kritične faze tijekom epigenetskog reprogramiranja kromatina u zametnim stanicama žene (preuzeto iz [5]). ..... 25

Tablica1. Pregled dušičnih baza koje ulaze u sastav molekule DNA ..... 3
Tablica 2. Prikaz vrsta kromatina koji se može uočiti pomoću tehnika pruganja i stanje kromatina u interfazi (pruzeto sa : http://www.genetika.biol.pmf.unizg.hr). ..... 8
Tablica 3. Fizička obilježja BPA pri normalnim uvjetima. ..... 13
Tablica 4. Prikaz prosječne koncentracije BPA u urinu stanovnika pojedinih država (preuzeto iz [8]). ..... 16
Tablica 5. Vrste plastike i uporabe za svaku pojedinu vrstu (Modificirano nakon preuzimanja sa https://www.ethicalhuman.co/the-seven-types-of-plastic/). ..... 18
Tablica 6. Epidemiološke studije koje povezuju učinak BPA s pojavom bolesti u ljudi (Preuzeto iz [10]). ..... 22