

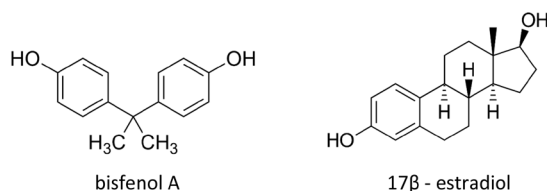
Plastic – (nie)fantastic? O wpływie bisfenolu A na funkcjonowanie oocytów i zarodków ssaków

STRESZCZENIE

Bisfenol A jest monomerycznym związkem organicznym należącym do grupy fenoli, mającym szerokie zastosowanie w produkcji żywic, poliwęglanów i tworzyw sztucznych. Masowa produkcja tego związku przyczyniła się do jego rozpowszechnienia w środowisku. Jest to niepokojące, gdyż BPA należy do ksenoestrogenów, związków syntetycznych o działaniu podobnym do estrogenu, więc może zakłócać funkcjonowanie organizmów zwierząt i ludzi. W artykule skupiamy się na wpływie BPA na wybrane aspekty płodności ssaków. W oparciu o najnowsze dane literaturowe pokazujemy, że BPA zaburza w oocytach i zarodkach m.in. wzór modyfikacji epigenetycznych, metabolizm energetyczny i strukturę wrzeciona podziałowego, co w rezultacie zmniejsza ich potencjał rozwojowy. Dyskutujemy też istotność wyników uzyskanych z doświadczeń prowadzonych *in vitro* i/lub na modelach zwierzęcych w kontekście wpływu BPA na płodność kobiet.

WSTĘP

Bisfenol A (BPA; Ryc. 1) jest monomerycznym związkem organicznym należącym do grupy fenoli, mającym szerokie zastosowanie w produkcji żywic, poliwęglanów i tworzyw sztucznych. Ze względu na swoją transparentność, lekkość oraz odporność na uszkodzenia stosowany jest do produkcji wielu przedmiotów codziennego użytku, np. plastikowych pojemników i butelek do przechowywania żywności, plastikowych zabawek dla dzieci, płyt CD i DVD, metalowych puszek (powleka ich wewnętrzną powierzchnię). Ponadto BPA znajduje się na powierzchni papieru wykorzystywanego do drukarek termicznych, stosowanych do drukowania paragonów. BPA wchodzi także w skład kosmetyków (dezodoranty, perfumy, szampony) i wypełnień dentystycznych. Masowa produkcja tego związku (prognozuje się, że osiągnie ponad 7 mln ton do końca 2023 roku [1]) przyczyniła się do jego rozprzestrzenienia w środowisku. BPA może się uwalniać pod wpływem zmian pH i temperatury z materiałów, do produkcji których go użyto, i migrować do żywności, powietrza, skóry, śliny czy krwi [2,3]. Szacuje się, że BPA przenika do organizmu człowieka przede wszystkim wraz z żywnością [4]. Kontakt człowieka z BPA jest na tyle częsty, że w analizach przeprowadzonych w różnych częściach świata BPA wykryto w moczu u średnio 90% badanych osób [5–8]. Oprócz moczu, BPA wykrywane jest u człowieka także w surowicy krwi, ślinie, mleku, płynie w pęcherzykach jajnikowych oraz łożysku [9] (Tabela 1).



Rycina 1. Wzory strukturalne bisfenolu A (BPA) i estradiolu.

BPA JAKO KSENOESTROGEN

Dlaczego BPA budzi zainteresowanie biologów i zaniepokojenie lekarzy? Otóż związek ten należy do tzw. ksenoestrogenów (gr. *xenos* - obcy), związków syntetycznych o działaniu podobnym do estrogenu. BPA może zatem zakłócać funkcjonowanie organizmów zwierząt i ludzi. BPA oddziałuje na komórki organizmu przede wszystkim przez receptory estrogenowe. Klasyczne receptory estrogenowe ER α i ER β (ang. *estrogen receptor alpha* i *beta*) znajdują się w cytozolu i po związaniu liganda (np. estradiolu lub BPA) zmieniają swoją konformację i migrują do jądra komórkowego, gdzie regulują ekspresję wybranych genów. Robią to bądź to wiążąc się bezpośrednio z obecnymi w obrębie promotorów pewnych genów sekwencjami warunkującymi odpowiedź na estrogen (EREs,

dr hab. Anna Ajduk prof. UW✉,
mgr Magdalena Sadkowska,
lic. Zuzanna Gronek[#],
lic. Aleksandra Płocienniak[#],
lic. Alicja Stodulska[#]

Zakład Embriologii, Instytut Biologii Rozwoju i Nauk Biomedycznych, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

https://doi.org/10.18388/pb.2021_413

✉ autor korespondujący: aajduk@biol.uw.edu.pl

[#] autorzy o równym wkładzie w przygotowanie artykułu

Słowa kluczowe: bisfenol A, ksenoestrogen, oocyt, zarodek, płodność

Wykaz skrótów: BPA – bisfenol A (ang. *bisphenol A*), COCs – kompleksy oocyt-komórki pęcherzykowe (ang. *cumulus-oocyte complexes*), ROS – wolne rodniki tlenowe (ang. *reactive oxygen species*), SAC – punkt kontrolny związany z wrzecionem (ang. *spindle assembly checkpoint*)

Tabela 1. Stężenia i dawki BPA fizjologicznie istotne dla człowieka

Typ płynu fizjologicznego/tkanki	Średnie stężenie BPA (wg. [9])
surowica krwi	0,2–4,5 ng/ml
ślina	0,2–42,8 ng/ml
mleko	0,6–3,4 ng/ml
mocz	0,1–27,3 ng/ml
płyn w pęcherzykach jajnikowych	2,4 ng/ml
łożysko	11,2 ng/g tkanki
Typ dawki	Dzienna wartość dawki BPA (wg. EFSA* [68])
tolerowalna dzienna dawka (TDI, z ang. <i>tolerable daily intake</i>)	4 ug/kg masy ciała
szacunkowa dzienna dawka spożywana wraz z jedzeniem	do 0,875 ug/kg masy ciała dla dzieci i 0,388 ug/kg masy ciała dla dorosłych
szacunkowa dzienna dawka z uwzględnieniem wszystkich źródeł ekspozycji	do 1.449 µg/kg masy ciała

*EFSA – European Food Safety Authority

ang. *estrogen responsive elements*), bądź poprzez uprzednie związanie się z innymi czynnikami regulującymi transkrypcję. Zdolność receptorów ER do regulacji transkrypcji zależy od ich oddziaływania z kofaktorami (koaktywatorami i korepresorami). Powinowactwo do kofaktorów zależy zaś od konformacji receptora przyjętej po związaniu liganda: poszczególne ligandy w odmienny sposób wpływają na strukturę przestrzenną receptorów, a co za tym idzie, na ich zdolność do wiązania koaktywatorów i korepresorów. Niewielka część receptorów ERα i ERβ ulega palmitylacji i lokalizuje się w błonie komórkowej. Receptory te po związaniu liganda aktywują wewnątrzkomórkowe ścieżki sygnałowe związane z kinazami ERK/MAPK (ang. *extracellular signal-regulated kinases/mitogen-activated protein kinases*), PI3K/AKT (ang. *phosphoinositide 3-kinases/AKT kinases*) czy p38/MAPK (ang. *p38/ mitogen-activated protein kinases*). Pozwala to na wywoływanie znacznie szybszych reakcji komórkowych w odpowiedzi na ligand niż w przypadku estrogenowych receptorów jądrowych. BPA wykazuje ok. 1000-2000 razy mniejsze powinowactwo do receptorów ERα i ERβ niż estradiol. BPA może za to oddziaływać z dużym powinowactwem ze stosunkowo niedawno odkrytym błonowym receptorem estrogenowym GPR30 (ang. *G protein-coupled receptor 30*). Dane doświadczalne sugerują, że BPA może również oddziaływać z innymi receptorami, np. receptorami androgenowymi (AR, ang. *androgen receptors*) czy sierocymi receptorami związanymi z estrogenem (ERR, ang. *estrogen-related receptors*) [3,10].

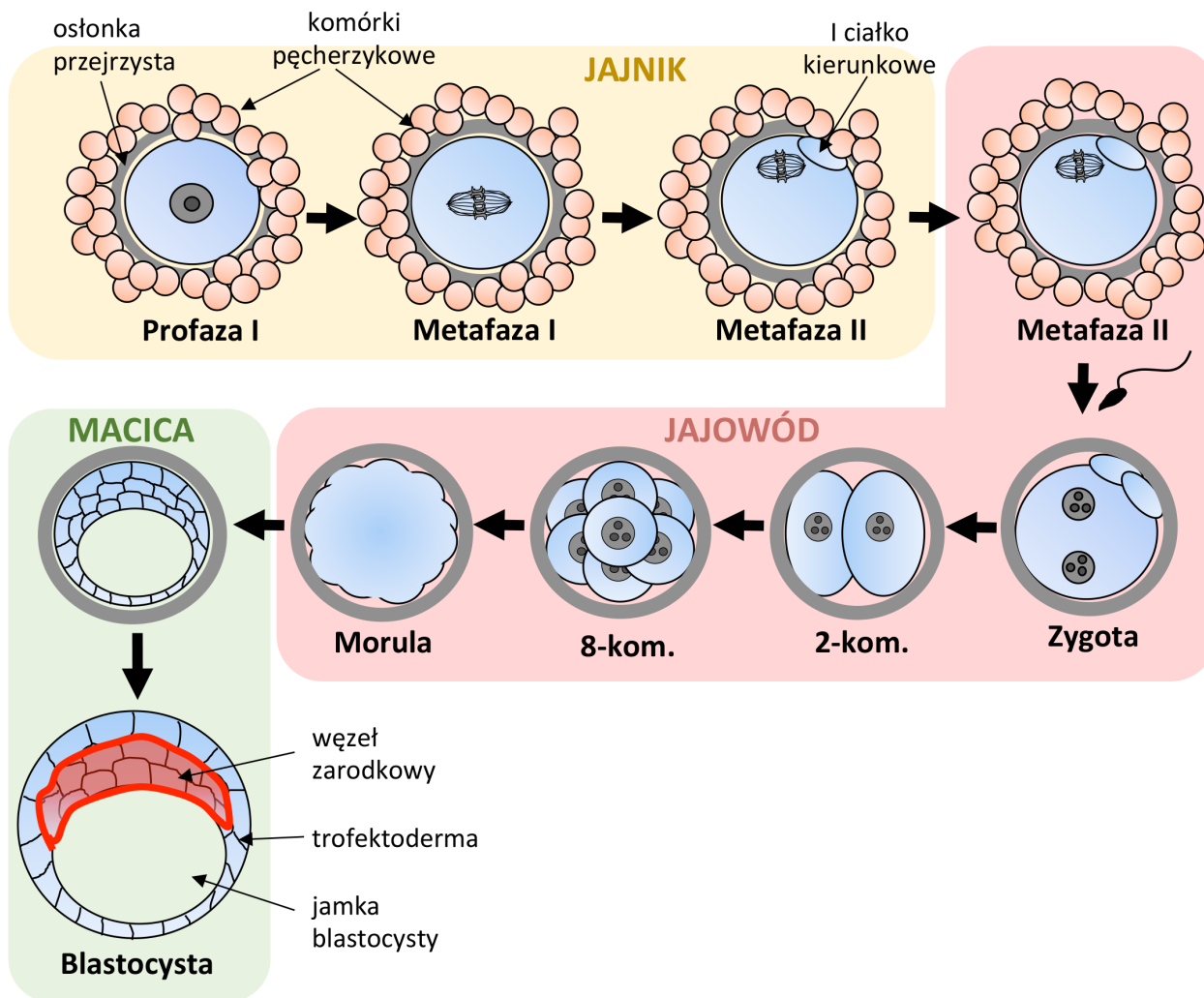
Wykorzystując wspomniane powyżej receptory i mechanizmy molekularne, BPA wpływa na różne aspekty funkcjonowania organizmu. Dotychczasowe dane wskazują, że ekspozycja na BPA zwiększa ryzyko otyłości, cukrzycy typu II i zespołu policystycznych jajników, chorób układu krążenia, stanów zapalnych, alergii, astmy, nowotworów piersi i prostaty, a nawet depresji i kłopotów z pamięcią [2,11]. Ze względu na jego powinowactwo do receptorów estrogenowych i potencjalnie androgenowych, intensywnie bada się też wpływ BPA na układ rozrodczy i płodność. W niniejszej pracy skupimy się na omówieniu wpływu BPA

na wybrane aspekty związane z rozmnażaniem płciowym ssaków, a mianowicie na przebieg mejozy w oocytach oraz wczesny (przedimplantacyjny) rozwój zarodkowy.

OOGENEZA ORAZ PRZEDIMPLANTACYJNY ROZWÓJ ZARODKOWY SSAKÓW

Oocyty wykształcają się na terenie jajników z pierwotnych komórek płciowych w czasie rozwoju płodowego. Po replikacji DNA oocyty rozpoczynają profazę I podziału mejozy (profazę I), kiedy to chromosomy ulegają kondensacji, a następnie – w pachytenie profazy I – rekombinacji. W okresie okołoporodowym wszystkie oocyty zostają zablokowane w kolejnym stadium profazy I, diplotenie. Blok ten trwa przynajmniej do okresu dojrzewania płciowego. W okresie dojrzałości płciowej oocyty i otaczające je struktury z somatycznych komórek pęcherzykowych, tzw. pęcherzyki jajnikowe, wchodzi stopniowo, wraz z kolejnymi cyklami hormonalnymi, w fazę wzrostu stymulowaną na końcowym etapie przez hormon folikulotropowy (FSH, ang. *follicle-stimulating hormone*). Oocyty gromadzą wówczas potrzebne im na późniejszych etapach rozwoju białka, kwasy nukleinowe (np. mRNA, rRNA) i organelle. Wyróżnione oocyty pod wpływem wyrzutu hormonu luteinizującego (LH, ang. *luteinizing hormone*) wznawiają mejozę: kończą profazę I i przechodzą I podział mejozy (tzw. dojrzewanie mejozy). W rezultacie tego podziału powstają dwie komórki: małe I ciało kierunkowe oraz duży oocyt zablokowany w stadium metafazy II podziału mejozy (metafazy II). Oocyty w metafazie II są owulowane, czyli uwalniane z jajnika do jajowodu, gdzie czekają na zapłodnienie. Dopiero fuzja z plemnikiem umożliwia ukończenie II podziału mejozy i zainicjowanie podziałów zarodkowych [12,13] (Ryc. 2). Niezapłodnione oocyty obumierają.

Początkowe etapy rozwoju zarodkowego zachodzą w jajowodzie, przez który zarodki powoli przesuwają się w kierunku macicy. Podziały zarodkowe trwają kilka dni, prowadząc do powstania moruli, zarodka składającego się z kilkunastu-kilkudziesięciu ściśle do siebie przylegających



Rycina 2. Schemat dojrzwania meiotycznego oocytów oraz przedimplantacyjnego rozwoju zarodkowego ssaków. W warunkach *in vivo* dojrzewanie meiotyczne oocytów odbywa się w jajnikach. Po osiągnięciu stadium metafazy II oocyty są uwalniane z jajnika do jajowodu (owulowane), i mogą tam zostać zapłodnione. Po zapłodnieniu rozpoczyna się rozwój zarodkowy. Pierwsze podziały mitotyczne zarodka zachodzą w jajowodzie. Dopiero w stadium moruli/blastocysty zarodki przechodzą do macicy. W blastocysty wyróżniamy dwie główne grupy komórek: trofektodermę, która odpowiada za implantację zarodka do ściany macicy, oraz węzeł zarodkowy, z którego rozwinię się ciało płodu wraz z błonami płodowymi. Szczegóły w tekście.

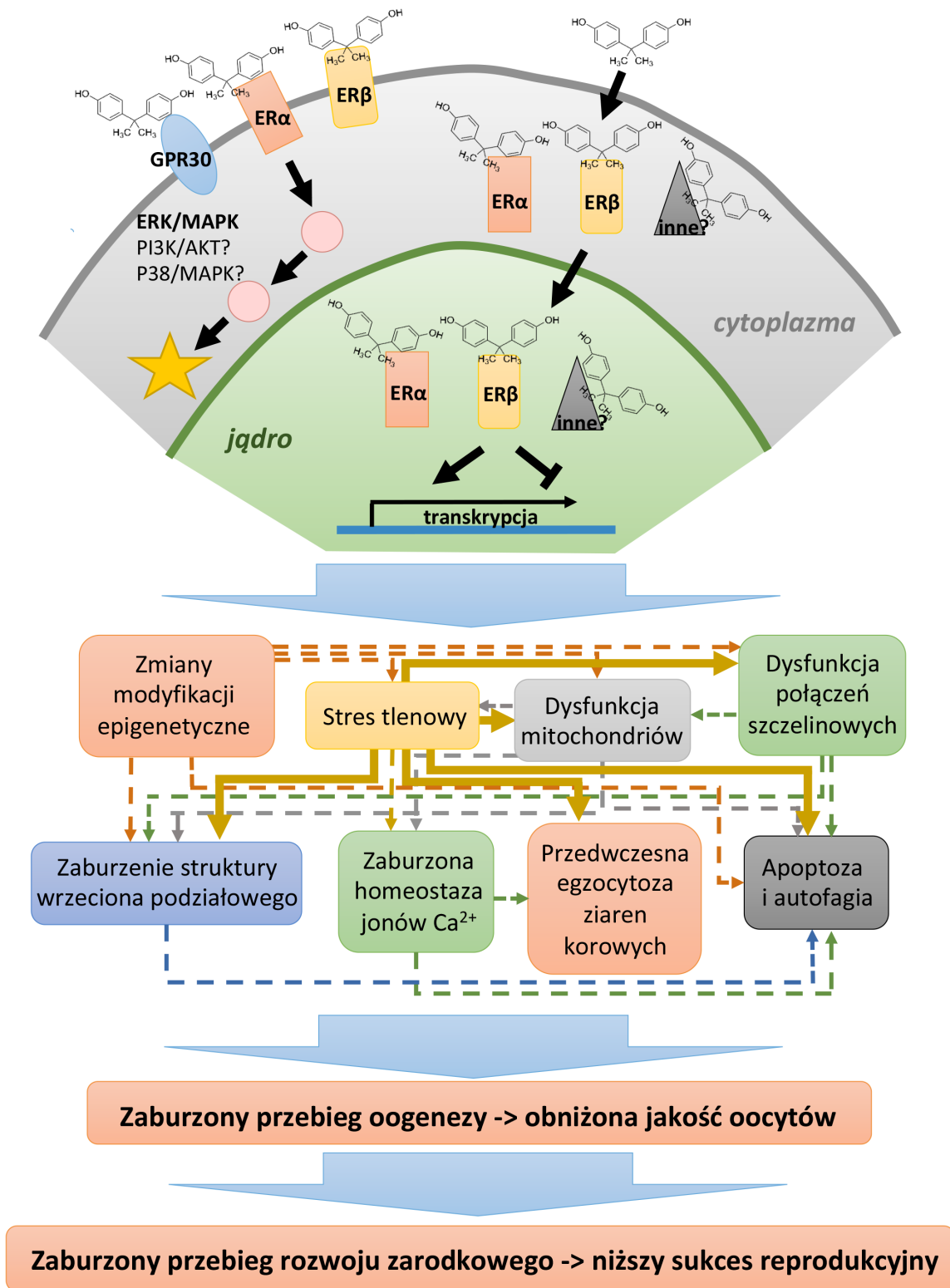
komórek, a następnie blastocysty, czyli zarodka składającego się z kilkudziesięciu-stu kilkudziesięciu komórek (przytoczone liczby komórek odpowiadają zarodkom myszy i człowieka, liczba komórek w poszczególnych stadiach rozwojowych różni się między gatunkami). Blastocysta powstaje w wyniku procesu zwanego kawitacją, polegającego na wytworzeniu się wewnątrz moruli jamki wypełnionej płynem. Jednocześnie, wyróżnicowują się w tym stadium dwie podstawowe grupy komórek: trofektoderma, tworząca zewnętrzną warstwę blastocysty i odpowiedzialna m.in. za proces implantacji i wytworzenie zarodkowej części łożyska, oraz węzeł zarodkowy leżący wewnątrz blastocysty, który następnie utworzy właściwe ciało płodu wraz z błonami płodowymi [14]. Blastocysty przechodzą z jajowodu do macicy, gdzie mogą ulec implantacji (Ryc. 2). Implantacja, czyli zagnieżdżenie się zarodka w ścianie macicy, jest niezbędna do dalszego wzrostu i różnicowania zarodka. Umożliwia bowiem wytworzenie łożyska, które zawiaduje wymianą gazową pomiędzy organizmem matki i płodu oraz transportem substancji odżywczych z organizmu mat-

ki do płodu i zbędnych produktów przemiany materii w odwrotnym kierunku.

Z punktu widzenia technicznych możliwości prowadzenia badań na oocytach i zarodkach ssaków, szalenie istotne jest to, że zarówno dojrzewanie meiotyczne oocytów, jak i przedimplantacyjny rozwój zarodków, można łatwo i efektywnie przeprowadzić w warunkach *in vitro*, a więc poza organizmem samicy. Ułatwia to planowanie i wykonywanie doświadczeń, choć jednocześnie zwiększa ryzyko, że uzyskane wyniki nie będą wystarczająco dobrze odzwierciedlać procesów zachodzących wewnątrz organizmu.

MECHANIZM ODZIAŁYWANIA BPA NA OOCYTY I ZARODKI SSAKÓW

Jak wskazują badania z ostatnich kilkunastu lat, BPA wpływa na wiele aspektów funkcjonowania oocytów i przedimplantacyjnych zarodków ssaków. Efekty działania tego związku zależą od wysokości dawki, jak i momentu



Rycina 3. Schemat mechanizmu oddziaływania bisfenolu A (BPA) na oocyty i zarodki ssaków. BPA wiąże się z receptorami estrogenowymi (ERα i β, GPR30) i potencjalnie też innymi, zlokalizowanymi bądź to w cytoplazmie komórki, bądź w błonie komórkowej. Receptory błonowe po związaniu BPA aktywują wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe. Dane uzyskane z doświadczeń na oocytach i zarodkach ssaków wskazują, że jednym z nich jest szlak zależny od kinazy ERK/MAPK, ale nie można wykluczyć udziału innych ścieżek przekazywania (np. zależnych od PI3K/AKT czy p38/MAPK). Receptory cytoplazmatyczne po związaniu BPA migrują z kolei do jądra komórkowego, gdzie regulują proces transkrypcji wybranych genów. Mechanizmy te skutkują – w sposób bezpośredni i pośredni – zmianami w fizjologii komórek: prowadzą do zaburzenia modyfikacji epigenetycznych, indukują stres tlenowy, zakłócają metabolizm energetyczny i funkcjonowanie połączeń szczelinowych, zaburzają strukturę wrzeciona podziałowego i homeostazę jonów Ca²⁺, wywołują przedwczesną egzocytozę ziaren korowych w oocytach oraz procesy apoptozy i autofagii. Niektóre z tych zmian (jak np. stres tlenowy) mogą pośredniczyć we wpływie BPA na inne procesy i struktury komórkowe (np. budowę wrzeciona podziałowego, funkcjonowanie mitochondriów i połączeń szczelinowych, apoptozę czy przedwczesną egzocytozę ziaren korowych). Liniami ciągłymi zaznaczono takie zależności potwierdzone danymi literaturowymi, zaś linią przerywaną – zależności prawdopodobne, lecz niepotwierdzone eksperymentalnie w oocytach lub zarodkach ssaków. Wszystkie te zmiany wpływają negatywnie na proces oogenezy oraz rozwoju zarodkowego. Szczegóły w tekście.

i sposobu jej podania (Tabela 2). Wyraźnie jednak widać pewne prawidłowości: jak wyjaśnimy poniżej, BPA prowadzi w komórkach do zmian w modyfikacjach epigenetycznych, indukuje stres tlenowy oraz zakłóca formowanie wrzeciona podziałowego. To z kolei negatywnie rzutuje na przebieg mejozy w oocytach oraz podziałów mitotycznych w zarodkach. Mechanizmy molekularne pośredniczące w oddziaływaniu BPA na komórki wciąż nie są dobrze poznane. Jednak już teraz obraz, który wyłania się z posiadanych przez nas danych, jest stosunkowo skomplikowany. Wszystko wskazuje na to, że BPA wpływa na funkcjonowanie oocytów i zarodków poprzez różnorodne receptory i szlaki sygnałowe. Przy obecnym stanie wiedzy trudno jest też czasem stwierdzić, które z obserwowanych zmian fenotypowych są bezpośrednim skutkiem oddziaływania BPA na receptory obecne w oocytach i zarodkach, a które są skutkiem drugorzędowym (Ryc. 3).

BPA A MODYFIKACJE EPIGENETYCZNE W GAMETACH I ZARODKACH SSAKÓW

Modyfikacje epigenetyczne to podlegające dziedziczeniu zmiany we wzorze ekspresji genów niezwiązane ze zmianą sekwencji DNA. Poprzez wpływ na ekspresję genów są kluczowe dla prawidłowego funkcjonowania komórki. Wyróżniamy trzy główne typy takich modyfikacji: metylację DNA, modyfikacje potranslacyjne histonów oraz oddziaływanie niekodujących RNA [15,16].

Metylacja DNA skutkuje zazwyczaj zahamowaniem transkrypcji danego genu. Szczególnego znaczenia nabiera w regulacji aktywności genów poddanych piętnowaniu genomowemu (ang. *imprinting*), czyli takich, które w komórce są aktywne tylko w jednej kopii: matczynej lub ojcowskiej. Zakłócenie imprintingu może prowadzić do poważnych schorzeń, np. zespołu Angelmana czy Pradera-Willi'ego [17]. Dotychczasowe badania wskazują, że BPA może hamować metylację DNA zarówno w oocytach, jak i w przedimplantacyjnych zarodkach ssaków. BPA dodany do pożywki w czasie dojrzewania mejotycznego *in vitro* oocytów świni prowadził do spadku ogólnego poziomu metylacji DNA (mierzonej jako intensywność barwienia immunofluorescencyjnego wykrywającego 5-metyl-cytozynę (5meC)) w oocytach w metafazie I oraz obniżenia ekspresji genu odpowiedzialnej za metylację DNA metylotransferazy DNMT3B (ang. *DNA-methyltransferase 3 beta*) przy jednoczesnym braku zmian w ekspresji DNMT3A (ang. *DNA methyltransferase 3 alpha*) [18]. Z kolei, w zarodkach świni poddanych działaniu BPA w czasie hodowli *in vitro* zaobserwowano znaczący spadek barwienia 5meC, któremu towarzyszyła zmniejszona ekspresja genów obu metylotransferaz: DNMT3A i DNMT3B [19]. Zespół Chao i wsp. wykazał także wpływ BPA na metylację genów poddanych piętnowaniu genomowemu w oocytach myszy: *Igf2r* (ang. *insulin like growth factor 2 receptor*) i *Peg3* (ang. *paternally expressed 3*) [20]. Geny te są stopniowo hipermetylowane/wyciszane w oocytach między 5. a 25. dniem po urodzeniu myszy, jednak, jeśli zwierzęta były poddane działaniu BPA, dochodziło do ich hipometylacji (zahamowania imprintingu). Co więcej, ekspozycja na BPA skutkowała obniżeniem ekspresji genów metylotransferaz *Dnmt1* (ang. *DNA-methyltransferase 1*), *Dnmt3a*, *Dnmt3b* i *Dnmt3L* (ang.

DNA-methyltransferase 3 like). Ponadto, BPA prowadził do wzrostu ekspresji, zarówno na poziomie mRNA, jak i białka, genu receptora estrogenowego ER α , co sugeruje, że receptor ten może być powiązany ze zmianami w metylacji DNA. Rzeczywiście, zahamowanie aktywności ER α przy użyciu chemicznego inhibitora podanego w czasie hodowli pęcherzyków jajnikowych *in vitro* przeciwdziałało hipometylacji genów *Igf2r* i *Peg3* w oocytach, a także spadkowi ekspresji *Dnmt1*, *Dnmt3a*, *Dnmt3b* i *Dnmt3L* [20]. Podobne wyniki uzyskali Trapphoff i wsp., którzy pokazali, że BPA dodany do pożywki w czasie hodowli *in vitro* pęcherzyków jajnikowych myszy prowadzi do wzrostu odsetka komórek z błędami w metylacji genów poddanych imprintingowi w allelu matczynym [21]. Wpływ BPA na geny poddane imprintingowi potwierdziły też doświadczenia, w których podawano ten związek myszom doustnie przez okres od 2 tygodni przed łączeniem z samcami do 9,5 lub 12,5 dnia ciąży. Doprowadziło to w uzyskanych zarodkach do zmian w metylacji szeregu genów poddanych metylacji na allelu matczynym: *Snrpn* (ang. *small nuclear ribonucleoprotein-associated protein N*), *Igf2* (ang. *insulin-like growth factor 2*), czy *Kcnq1ot1* (ang. *KCNQ1 opposite strand/antisense transcript 1*), oraz na allelu ojcowskim: *Ascl2* (ang. *achaete-scute complex homolog 2*), *Cdkn1c* (ang. *cyclin dependent kinase inhibitor 1C*), czy *Ube3a* (ang. *ubiquitin-protein ligase E3A*). Zmiany te obserwowano zarówno w komórkach płodu, jak i (a właściwie przede wszystkim) łożyska. Towarzystwo im obniżenie ogólnej metylacji DNA w komórkach łożyska ale nie płodu, a także nieprawidłowości w budowie łożyska [22].

Równie istotnym, co metylacja DNA, procesem regulującym ekspresję genów w komórkach są modyfikacje epigenetyczne histonów (zwłaszcza tzw. histonów rdzenia: H2A, H2B, H3 i H4), czyli podstawowych białek odpowiadających za strukturę chromatyny. Modyfikacje te mają charakter potranslacyjny i zaliczają się do nich np.: acetylacja, metylacja, fosforylacja czy ubikwitynacja. Wpływają one na strukturę chromatyny, a przez to na jej interakcje z białkami regulatorowymi, w tym czynnikami transkrypcyjnymi [16]. Hodowla *in vitro* pęcherzyków jajnikowych myszy w obecności BPA doprowadziła do spadku trimetylacji lizyny 9 histonu H3 (H3K9me3) w oocytach, które osiągnęły stadium metafazy II. Nie zaobserwowano jednak zmian w acetylacji lizyny 12 histonu H4 (H4K12ac) [21]. BPA obniżył też metylację histonu H3 w oocytach świni w metafazie I: podanie BPA w czasie dojrzewania oocytów *in vitro* wywołało obniżenie poziomu dimetylacji lizyny 4 histonu H3 (H3K4me2), ale także wzrost ekspresji genów kodujących niektóre metylotransferazy odpowiadające za metylację histonów (*ASH2L* (ang. *ASH2 like, histone lysine methyltransferase complex subunit*), *EED* (ang. *embryonic ectoderm development*), *EZH2* (z ang. *enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit*)) przy równoczesnym braku zmian w ekspresji *SUZ12* (ang. *SUZ12 polycomb repressive complex 2 subunit*) i *SUV39H2* (z ang. *suppressor of variegation 3-9 homolog 2*) [18].

Ostatnio do opisanych przez naukę mechanizmów epigenetycznej regulacji ekspresji genów dołączyły niekodujące RNA, w tym mikroRNA (miRNA). miRNA może hamować ekspresję genów potranskrypcyjnie, poprzez interakcję z cząsteczkami mRNA i obniżanie ich stabilności i/lub hamowanie translacji [15,16]. Najnowsze do-

Tabela 2. Modele doświadczalne wykorzystane w badaniu wpływu BPA i jego zastępników na funkcjonowanie oocytów i wczesnych zarodków ssaków

Gatunek	Zastosowane stężenia BPA	Sposób podania	Analizowane komórki/stadium	Publikacja
człowiek	1–30 μM (0,2–6,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> płodowych jajników	płodowe oocyty w profazie I	[52]
człowiek	87,6 nM–87,6 μM (20 ng/ml–20 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> oocytów	oocyty dojrzewające meiotycznie	[38]
mysz	3nM–30 μM (0,7 ng /ml–6.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> pęcherzyków jajnikowych	oocyty dojrzewające meiotycznie, komórki pęcherzykowe	[37]
mysz	3 i 300 nM (0,7 i 68 ng/ml)	w hodowli <i>in vitro</i> pęcherzyków jajnikowych	oocyty dojrzewające meiotycznie, pęcherzyki jajnikowe	[21]
mysz	4,5 i 45 μM (1,0 i 10,2 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> pęcherzyków jajnikowych	oocyty dojrzewające meiotycznie, pęcherzyki jajnikowe	[39]
mysz	0,2 nM–2,2 μM (50 pg/ml–502 ng/ml)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie, COCs	[30]
mysz	10–30 μM (2,3–6,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie	[34]
mysz	87,6–438 μM (20–100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie, zarodki przedimplantacyjne	[25]
mysz	8,8–438 μM (2–100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie	[40]
mysz	10 nM–100 μM (2,3 ng/ml–22,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> oocytów	oocyty w profazie I	[47]
mysz	21,9–219 μM (5–50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> oocytów	oocyty owulowane	[41]
mysz	100 pM–100 μM (22,8 pg/ml–22,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> zarodków	zarodki przedimplanta-cyjne	[55]
mysz	1 nM i 100 μM (0.2 ng/ml i 22,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> zarodków	zarodki przedimplantacyjne	[56]
mysz	(i) 0,2–44 μM (50 ng/ml–10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) (ii) 20–100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała	(i) w hodowli <i>in vitro</i> oocytów (ii) codziennie doustnie przez tydzień	oocyty dojrzewające meiotycznie	[35]
mysz	100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała	codziennie doustnie przez tydzień	oocyty dojrzewające meiotycznie	[27]
mysz	1–100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała	codziennie doustnie przez 2 tygodnie	jajniki, krew	[51]
mysz	50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ / masy ciała	codziennie doustnie przez 3 cykle hormonalne	jajniki, krew, oocyty dojrzewające meiotycznie, zarodki przedimplantacyjne	[45]
mysz	(i) 0,2 i 20 mg/kg masy ciała (ii) 0,04 mg/kg masy ciała (iii) 0,5 mg/l	(i) jednorazowo, doustnie (ii) codziennie, doustnie przez tydzień (iii) 7 tygodni w wodzie do picia	oocyty owulowane, zygoty	[42]
mysz	200–800 mg/kg masy ciała	codziennie doustnie od 0,5 do 3,5 dnia ciąży	zarodki przed- i okołimplanta-cyjne	[50]
mysz	25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ –100 mg/kg masy ciała	codzienne zastrzyki od 0,5 do 3,5 dnia ciąży	zarodki przed- i okołimplanta-cyjne, noworodki	[57]
mysz	20 i 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała	codzienne zastrzyki przez tydzień lub zastrzyki co 5 dni przez 15 dni	oocyty dojrzewające meiotycznie, jajniki	[20]
krowa	1 fM–50 μM (0,2 fg/ml–11,4 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie	[33]
krowa	4,4 i 44 nM (1 i 10 ng/ml)	w hodowli <i>in vitro</i> zarodków	zarodki przedimplantacyjne	[54]
krowa	66 i 131 nM (15 i 30 ng/ml)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie	[36]
krowa	66 i 131 nM (15 i 30 ng/ml)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	zarodki przedimplantacyjne	[48]
krowa	219 μM (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie, COCs, zarodki przedimplantacyjne	[24,31,49]
świnia	100 pM–100 μM (22,8 pg/ml–22,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie, COCs	[53]
świnia	50–100 μM (11,4–22,8 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie, COCs	[26]
świnia	200 i 250 μM (45,7 i 57,1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> COCs	oocyty dojrzewające meiotycznie	[18]
świnia	50–200 μM (11,4–45,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$)	w hodowli <i>in vitro</i> zarodków	zarodki przedimplantacyjne	[19]

niesienia wskazują, że BPA zmienia ekspresję miRNA w oocytach, komórkach pęcherzykowych otaczających oocyty w jajniku, a także w zarodkach przedimplantacyjnych. Rodosthenous i wsp. wykazali, że BPA obniża ekspresję miRNA 27b-3p w ludzkich komórkach pęcherzykowych hodowanych *in vitro*, co prowadzi do wzrostu ekspresji genu *FADD* (ang. *Fas-associated protein with death domain*) zaangażowanego w apoptozę [23]. Z kolei Sabry i wsp. wykazali, że BPA podany w czasie dojrzewania krowich oocytów *in vitro* doprowadził do zmian w ekspresji miR-10b, miR-21, miR-29a, miR-34 i miR-155 w obrębie kompleksów zbudowanych z oocytów i komórek pęcherzykowych (tzw. COCs, ang. *cumulus-oocyte complexes*). Nie zaobserwowano natomiast zmian w ekspresji miR-146a. Co ciekawe, BPA podane w czasie dojrzewania mejotycznego oocytów krowy spowodowało wzrost w ekspresji miR-34c w otrzymanych z tychże oocytów zarodkach 8–16 komórkowych (czyli na stadium, gdy dochodzi do aktywacji genomu zarodkowego w zarodkach krowy) [24].

Podsumowując, zmiany w modyfikacjach epigenetycznych wywołane przez BPA w oocytach i zarodkach ssaków mogą prowadzić do zmian w ekspresji genów, a w rezultacie - do zaburzenia funkcjonowania tych komórek. Nie można zatem wykluczyć, że zaburzenia związane z działaniem BPA opisane w kolejnych paragrafach są też, choćby w części, związane z zaburzeniem wzoru modyfikacji epigenetycznych.

BPA A STRES OKSYDACYJNY

Szereg publikacji wskazuje, że innym ważnym mechanizmem pośredniczącym we wpływie BPA na oocyty i zarodki jest stres tlenowy. Nagromadzenie w komórce wolnych rodników tlenowych (ROS, ang. *reactive oxygen species*) skutkuje uszkodzeniem DNA, białek i lipidów, a w konsekwencji zaburzeniem pracy organelli. BPA podany w czasie dojrzewania mejotycznego *in vitro* oocytów myszy prowadził w nich do wzrostu ilości ROS oraz spadku ilości glutationu, jednego z głównych przeciwutleniaczy komórkowych [25]. Podobny efekt BPA wywarł na dojrzewające oocyty świni. W nich również zaobserwowano wzrost ilości ROS, a także wzrost ekspresji genów kodujących enzymy antyoksydacyjne *SOD2* (ang. *superoxide dismutase 2*), *PRDX3* i *PRDX5* (ang. *peroxiredoxin 3 i 5*) [18,26]. W obu przypadkach dodanie do hodowli przeciwutleniaczy usuwało objawy stresu tlenowego [25,26]. Akumulację ROS w oocytach myszy zaobserwowano także, gdy BPA podawano zwierzętom doustnie przez 7 dni przed izolacją oocytów [27]. BPA wywołuje też stres oksydacyjny w zarodkach przedimplantacyjnych: dodany do hodowli *in vitro* zarodków świni prowadził do wzrostu stężenia ROS w ich komórkach [19].

Jak opiszemy poniżej, doświadczenia z zastosowaniem antyoksydantów wskazały, że wzrost stężenia ROS odpowiada - przynajmniej częściowo - za zaburzenia w funkcjonowaniu oocytów i zarodków ssaków wywołane przez BPA, w tym za zmiany w aktywności mitochondriów, komunikacji międzykomórkowej, strukturze aparatu jądrowego, rozmieszczeniu organelli w komórce, a także za indukację procesów apoptozy i autofagii [25-28] (Ryc. 3).

BPA A FUNKCJONOWANIE MITOCHONDRIOW

Mitochondria to organelle kluczowe dla poprawnego funkcjonowania komórki, gdyż są głównym miejscem produkcji ATP, wysokoenergetycznego związku potrzebnego w wielu procesach komórkowych. Jak wykazali Park i wsp., BPA podany w czasie dojrzewania *in vitro* oocytów świni obniżył potencjał błonowy mitochondriów, czyli doprowadził do spadku ich aktywności. Wpływ BPA na mitochondria został zahamowany przez działanie antyoksydantów, co sugeruje, że mediatorem opisanych powyżej zmian są ROS [26].

BPA A POŁĄCZENIA SZCZELINOWE

Prawidłowy przebieg oogenezy, warunkujący jakość oocytów, zależy w dużej mierze od poprawnej komunikacji między oocytami a otaczającymi je w jajniku komórkami pęcherzykowymi. Jednym z głównych szlaków tej komunikacji są połączenia szczelinowe, przez które komórki pęcherzykowe dostarczają oocytom wielu potrzebnych substancji, np. substratów energetycznych czy substancji regulatorowych [30]. Połączenia szczelinowe łączące oocyty z komórkami pęcherzykowymi zbudowane są z koneksyn 37, zaś połączenia szczelinowe pomiędzy sąsiednimi komórkami pęcherzykowymi - z koneksyn 43 [29]. BPA podany w czasie hodowli *in vitro* mysich COCs prowadził do zahamowania transportu zarówno pomiędzy samymi komórkami pęcherzykowymi, jak i pomiędzy komórkami pęcherzykowymi a oocytem, mimo, że nie wpływał na ekspresję koneksyn 43 i 37. Wynik ten sugeruje, że w pęcherzykach jajnikowych myszy BPA może wpływać na funkcjonowanie połączeń szczelinowych na poziomie potranslacyjnym [30]. Inaczej niż w doświadczeniach z wykorzystaniem komórek mysich, w świńskich COCs hodowanych z BPA zauważono obniżenie ilości mRNA koneksyny 37 [26]. Co więcej, ekspresja koneksyny 37 wróciła do normalnego poziomu po zastosowaniu antyoksydantów, co sugeruje, że stres tlenowy indukowany przez BPA jest odpowiedzialny za zaburzenia komunikacji międzykomórkowej w COCs [26]. Jeszcze inne wyniki odnotowano dla krowich COCs traktowanych BPA. Podobnie jak w przypadku COCs myszy, BPA nie wpłynął w nich na ekspresję koneksyny 43, ale spowodował wzrost ekspresji koneksyny 37 w komórkach pęcherzykowych [31]. Zahamowanie funkcjonalności połączeń szczelinowych odnotowano też dla ludzkich komórek pęcherzykowych hodowanych *in vitro* w obecności BPA. W tym przypadku zaobserwowano zmniejszoną ekspresję koneksyny 43 na poziomie mRNA. Co ciekawe, efekt ten był zahamowany przez zastosowanie antagonisty receptora estrogenowego lub inhibitora kinazy MAPK, co sugeruje, że są one mediatorami wpływu BPA na połączenia szczelinowe [32].

BPA A STRUKTURA WRZECIONA PODZIAŁOWEGO

Prawidłowa struktura wrzeciona podziałowego jest kluczowa dla zapewnienia poprawnego rozdziału materiału genetycznego pomiędzy komórki potomne. Sprawna regulacja tego procesu jest ważna dla każdego typu dzielących się komórek, ale w przypadku oocytów i zarodków przedimplantacyjnych zyskuje dodatkowe znaczenie - tu

w grę wchodzi bowiem 'genetyczny dobrostan' nowego organizmu. BPA podany w czasie dojrzewania *in vitro* krowich, świńskich, mysich i ludzkich oocytów prowadził do zaburzeń w budowie wrzeciona podziałowego (np. zmian kształtu wrzeciona, rozproszenia materiału pericentriolarnego, zaniku bipolarności) oraz w ułożeniu chromosomów [18,33–39]. Zaburzenia w formowaniu wrzeciona zaobserwowano także gdy BPA zastosowano w warunkach *in vivo*, podając go doustnie myszom przez 7 dni [27,35]. We wrzecionach o nieprawidłowej strukturze obserwowano obecność białka MAD2 (ang. *mitotic arrest deficient 2*), świadcząca o aktywacji punktu kontrolnego cyklu komórkowego powiązanego z odpowiednim przyłączeniem chromosomowych kinetochorów do mikrotubul wrzeciona (SAC, ang. *spindle assembly checkpoint*) [35,40]. Aktywacja tego punktu kontrolnego tłumaczy opóźnienie w przebiegu I podziału mejotycznego lub jego całkowite zahamowanie obserwowane w oocytach traktowanych BPA (czytaj poniżej). Co więcej, BPA wpłynął negatywnie na budowę wrzeciona podziałowego również gdy został dodany pożywki hodowlanej już po osiągnięciu przez oocyty stadium metafazy II [41]. Oznacza to, że BPA zakłóca nie tylko proces formowania wrzeciona, ale i utrzymywania jego prawidłowej struktury. Nie zaobserwowano natomiast związku między BPA a wzrostem częstości aneuploidii w oocytach w metafazie II lub w zygotach [35,42].

W oocytach traktowanych BPA odnotowano także spadek ilości ufosforylowanych form kinaz MAPK oraz CaMKII (ang. *Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II*), ważnych enzymów regulującego strukturę wrzeciona [18,39], co może tłumaczyć jego nieprawidłową budowę. Z kolei doświadczenia z użyciem inhibitora kinazy Aurora A sugerują, że enzym ten pośredniczy we wpływie BPA na kształt biegunów wrzeciona [41]. Co więcej, zastosowanie antyoksydantów przeciwdziałało powstawaniu nieprawidłowości w strukturze wrzeciona, wskazując, że wywołany przez BPA stres tlenowy może być odpowiedzialny za zaburzenia w budowie aparatu jądrowego [27].

BPA A FUNKCJONOWANIE MECHANIZMÓW ODPOWIEDZIALNYCH ZA PRAWDŁOWY PRZEBIEG ZAPŁODNIENIA

Oprócz opisanych powyżej struktur komórkowych, takich jak mitochondria czy wrzeciono podziałowe, istotne dla prawidłowego wypełnienia przez oocyty ich funkcji (czyli połączenia z plemnikiem w celu zainicjowania rozwoju zarodkowego) są tzw. ziarna korowe. Organelle te zawierają enzymy, które po zapłodnieniu są uwalniane na skutek egzocytozy do przestrzeni otaczającej oocyt, co pozwala na modyfikację osłonki przejrystej (czyli białkowej otoczki osłaniającej oocyt) i uczynienie jej nieprzenikalną dla dodatkowych plemników. W ten sposób powstaje blok przeciwko polispermii na poziomie osłonki przejrystej, uniemożliwiający zapłodnienie oocytu przez więcej niż jeden plemnik [43]. Okazuje się, że ziarna korowe są podatne na działanie BPA. Podanie myszom BPA doustnie przez 7 dni wywołało w oocytach przedwczesną egzocytozę ziaren korowych, a w rezultacie modyfikację osłonki przejrystej zanim doszło do zapłodnienia [27]. Dodatkowo, BPA spowodował w tym układzie doświadczalnym utratę białka Juno z błony komórkowej oocytów [27]. Białko to odpowia-

da za wiązanie plemnika na powierzchni oocytu, proces warunkujący późniejszą fuzję gamet [44]. Podanie antyoksydantów zmniejszyło efekt działania BPA, co świadczy o tym, że przedwczesna egzocytoza ziaren korowych, podobnie jak i utrata białka Juno z powierzchni oocytu, mogły być wywołane przez stres tlenowy zaindukowany przez BPA [27]. Obniżenie zdolności do zapłodnienia zaobserwowano także w oocytach myszy, którym podawano BPA doustnie przez trzy cykle hormonalne [45], jak i w układzie, w którym oocyty myszy poddano dojrzewaniu *in vitro* w obecności BPA [25].

Wiele wskazuje na to, że BPA wpływa także na homeostazę jonów Ca²⁺ w oocytach ssaków. Jony Ca²⁺ są kluczowym elementem odpowiedzi oocytu na zapłodnienie – plemnik wywołuje w oocycie oscylacje cytoplazmatycznego stężenia wolnych jonów Ca²⁺, które z kolei aktywują enzymy (np. kinazę CaMKII) regulujące ukończenie mejozy i inicjację mitotycznych podziałów zarodkowych, czy wspomniane wcześniej egzocytozę ziaren korowych i ustanowienie bloku przeciwko polispermii na poziomie osłonki przejrystej [46]. Mohri i Yoshida zaobserwowali, że BPA znacząco osłabia spontaniczne oscylacje Ca²⁺ obserwowane często w oocytach myszy dojrzewających *in vitro* [47]. Nasze dane wskazują natomiast, że związek ten zaburza też oscylacje Ca²⁺ indukowane w dojrzałych oocytach myszy przez zapłodnienie, i że dzieje się to za pośrednictwem ścieżek sygnałowych zależnych od receptora GPR30 i kinazy MAPK (Sadowska i Ajduk, w przygotowaniu).

BPA A INDUKCJA APOPTOZY I AUTOFAGII

Wywoływane przez BPA zaburzenia, takie jak dysfunkcja mitochondriów, zakłócenie homeostazy jonowej czy nieprawidłowości aparatu jądrowego, mogą wprowadzić komórkę na ścieżkę programowanej śmierci, czyli apoptozy, i/lub ścieżkę 'recyklingu' organelli i cząsteczek znajdujących się w komórce, czyli autofagii (Ryc. 3). Badania potwierdzają, że BPA rzeczywiście indukuje w oocytach, komórkach pęcherzykowych czy zarodkach oba te procesy.

Poddanie dojrzewających *in vitro* świńskich COCs działaniu BPA inicjowało w nich proces apoptozy. Objawiało się to wzrostem ilości mRNA dla białek proapoptycznych, takich jak kaspaza 3 i BAX (ang. *Bcl-2-associated X protein*). Odnotowano także zwiększenie ilości białka AIF (ang. *apoptosis-inducing factor*), indukującego apoptozę w sposób niezależny od kaspaz, oraz przeciętych formy kaspazy 3 i białka PARP1 (ang. *poly [ADP-ribose] polymerase-1*), będących znacznikami komórek w stanie apoptozy [26]. Wang i wsp. zaobserwowali z kolei wzrost błonowej ekspresji typowego markera apoptozy, aneksyny V, a także spadek ilości mRNA antyapoptycznego BCL-XL (ang. *B-cell lymphoma-extra large*), przy braku zmian w ekspresji mRNA proapoptycznego BAK (ang. *Bcl-2 homologous antagonist/killer*) [18]. Wzrost odsetka oocytów pozytywnie wyznakowanych w barwieniu na aneksynę V, a więc z zaindukowanym procesem apoptozy, zaobserwowano też w przypadku myszy, którym przez 7 dni podawano BPA doustnie [27]. Efekt ten został przynajmniej częściowo zahamowany przez podanie przeciwutleniaczy, co sugeruje, że apoptozę może wywoływać stres tlenowy [26,27]. Podanie BPA w czasie dojrze-

wania *in vitro* oocytów krwi doprowadziło też do wzrostu odsetka apoptotycznych komórek w uzyskanych z tych oocytów zarodkach [48,49]. Indukcję apoptozy, przejawiającą się wzrostem liczby komórek z typowymi uszkodzeniami DNA (zidentyfikowanymi za pomocą barwienia TUNEL), spadkiem ekspresji antyapoptotycznych genów *BCL2* (ang. *B-cell lymphoma 2*) i *BCL-XL*, jak i uwolnieniem cytochromu C z mitochondriów, odnotowano także w zarodkach świni hodowanych *in vitro* w obecności BPA [19]. Wzrost liczby komórek apoptotycznych zaobserwowano również w mysich blastocystach uzyskanych od samic, którym podawano doustnie BPA w czasie pierwszych 3 dni ciąży [50].

W świńskich oocytach dojrzewających *in vitro*, BPA indukował też ekspresję genów kodujących białka powiązane z procesem autofagii, takie jak *LC3* (ang. *microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3*) oraz *ATG3* i *ATG7* (ang. *autophagy related 3* i *7*), biorące udział w typowej dla autofagii modyfikacji (tzw. lipidacji) *LC3*. Jednocześnie, BPA nie wywołał w tym układzie doświadczalnym zmian w ekspresji genów kodujących inne białka zaangażowane w autofagię: *LAMP2* (ang. *lysosome-associated membrane protein 2*) i *ATG5* (ang. *autophagy related 5*), i spowodował spadek ekspresji pozostałych regulatorów autofagii, białek *mTOR* (ang. *mammalian target of rapamycin*) i *Beclin1* [18]. Wzrost ekspresji genów *LC3* oraz *BECN1* (gen kodujący białko *Beclin1*) przy braku zmian w ilości mRNA *ATG5* zaobserwowano także w świńskich zarodkach hodowanych *in vitro* w obecności BPA [19]. Indukcję autofagii przez BPA potwierdziła też analiza jajników uzyskanych od myszy, którym związek ten podawano doustnie codziennie przez 2 tygodnie. Zaobserwowano w nich wzrost ekspresji białek *LC3* oraz *Beclin1*, jak i typowy dla autofagii wzrost stosunku ilości skoniugowanej z fosfatydyletanolaminą (czyli poddanej lipidacji) formy *LC3* (*LC3II*) do formy niezmodyfikowanej (*LC3I*) [51]. Podobne wyniki uzyskano dla ludzkich komórek pęcherzykowych hodowanych *in vitro* z BPA [51]. Co istotne, obniżenie ekspresji kinazy *AMPK* (ang. *5' AMP-activated protein kinase*) w komórkach pęcherzykowych zahamowało autofagię, sugerując, że kinaza ta pośredniczy w indukcji tego procesu przez BPA [51].

BPA A PRZEBIEG MEJOZY W OOCYTACH

Opisane powyżej zaburzenia w funkcjonowaniu oocytów oraz otaczających je w jajniku komórek pęcherzykowych (podsumowane na Ryc. 3) mogą prowadzić do poważnych zakłóceń w przebiegu mejozy w oocytach. Gdy BPA dodano do pożywki, w której hodowano ludzkie płodowe jajniki uzyskane z banku tkanek, okazało się, że związek ten spowalniał przebieg profazy I podziału mejotycznego: zwiększał się odsetek oocytów w leptotenii, a zmniejszał w pachytenii. Co więcej, BPA zwiększył liczbę miejsc *crossing-over* obserwowanych w oocytach w pachytenii. Podobny efekt obserwowano, gdy zamiast BPA zastosowano estradiol, co sugeruje, że wpływ BPA jest związany z jego ksenoestrogenowym charakterem [52]. BPA dodane do pożywki w czasie dojrzewania mejotycznego *in vitro* oocytów człowieka, myszy, świni i krwi prowadziło zazwyczaj do zależnego od dawki opóźnienia lub wręcz zahamowania I podziału mejotycznego. Skutkowało to mniejszą liczbą oocytów, które osiągały stadium metafazy II [18,25,26,30,34,36–40,53].

Dojrzewanie mejotyczne oocytów zostało zahamowane także wówczas, gdy BPA podawano samicom myszy doustnie przez 7 dni przed rozpoczęciem tego procesu [27]. Co istotne, zastosowanie antyoksydantów zwiększało odsetek oocytów, które były w stanie osiągnąć stadium metafazy II [25–27]. Wynik ten sugeruje, że stres tlenowy może być ważnym mechanizmem pośredniczącym we wpływie BPA na przebieg dojrzewania mejotycznego. Należy jednak zauważyć, że nie wszyscy badacze zaobserwowali zahamowanie I podziału mejotycznego oocytów na skutek działania BPA [33].

BPA może zakłócać przebieg mejozy w oocytach nie tylko poprzez wywołanie zaburzeń w procesach komórkowych opisanych we wcześniejszych paragrafach, ale także wpływając na regulację hormonalną wewnątrz jajnika. W układzie doświadczalnym, w którym pęcherzyki jajnikowe myszy hodowano *in vitro* w obecności BPA, zaobserwowano, że związek ten prowadzi do spadku produkcji estradiolu przez komórki [37,39] i do obniżonej ekspresji receptorów estrogenowych [39]. W krowich COCs hodowanych *in vitro* z BPA odnotowano zależne od stężenia tego związku zmiany w produkcji hormonu anti-Müllerowskiego (*AMH*, ang. *anti-Müllerian hormone*) i jego receptora, *AMHR2* (ang. *anti-Müllerian hormone receptor type 2*) [49]. Z kolei, BPA podawany samicom myszy doustnie codziennie przez 2 tygodnie według jednego z badaczy nie wpłynął znacząco na cykl hormonalny samic [45], choć według innych - doprowadził do zależnego od dawki BPA spadku stężenia estradiolu, progesteronu i *AMH* w krwi zwierząt [51]. Spadek produkcji estradiolu i progesteronu zanotowano także w ludzkich komórkach pęcherzykowych hodowanych *in vitro* w obecności BPA. Co ciekawe, wpływ BPA na stężenie hormonów ulegał odwróceniu przy zastosowaniu inhibitora procesu autofagii, wskazując, że autofagia i efektywność produkcji hormonów przez komórki pęcherzykowe są ze sobą powiązane [51].

BPA A ROZWÓJ ZARODKOWY

Prawidłowe dojrzewanie oocytów warunkuje ich zdolność do podtrzymania późniejszego rozwoju zarodka (Ryc. 3). Nie powinno zatem dziwić, że dojrzewanie oocytów krowich i mysich *in vitro* w obecności BPA negatywnie wpłynęło na rozwój uzyskanych z tych oocytów zarodków. Zarodki takie, w porównaniu do zarodków kontrolnych, słabiej się dzieliły i rzadziej osiągały stadium blastocysty [24,25,31,48,49]. W innym doświadczeniu zarodki uzyskano przez zapłodnienie *in vitro* z oocytów wyizolowanych z samic myszy karmionych BPA codziennie przez 3 cykle hormonalne. Zarodki te rozwijały się normalnie przynajmniej przez pierwsze 48 godzin od zapłodnienia, jednak czas obserwacji był zbyt krótki, by uchwycić ewentualny wpływ BPA np. na proces tworzenia się blastocyst [45].

Dodanie BPA do pożywki dopiero na etapie rozwoju przedimplantacyjnego *in vitro*, zmniejszyło efektywność uzyskiwania krowich i świńskich blastocyst [19,54]. BPA nie wpłynął jednak na całkowitą liczbę komórek w krowich blastocystach i ich rozdział między węzeł zarodkowy a trofektodermę [54]. W przypadku zarodków świni hodowanych w obecności BPA zaobserwowano natomiast zmniejszenie

szoną ekspresję genów białek pluripotencji, typowych dla wężła zarodkowego, takich jak *OCT4* (ang. *Octamer-binding transcription factor 4*), *SOX2* (z ang. *SRY-box transcription factor 2*) i *NANOG* (irl. *Tír na nÓg*, Kraina młodości). Wynik ten wskazuje, że BPA może jednak zaburzać formowanie pierwszych zarodkowych linii komórkowych [19]. Odmienny wpływ BPA na różnicowanie pierwszych linii zarodkowych w zarodkach krowy i świni może wynikać z różnic między tymi gatunkami (np. we wrażliwości na BPA), ale i z zastosowania innego układu doświadczalnego (stężenie BPA, czas jego dodania do hodowli, sposób analizy zarodków). Co ciekawe, mimo że wpływ BPA na przedimplantacyjny rozwój zarodków krowy przypominał wpływ estradiolu, zastosowanie antagonisty receptorów estrogenowych nie zdołało całkowicie odwrócić skutków działania BPA [54]. Może to świadczyć o tym, że BPA oddziałuje na rozwój zarodkowy poprzez skomplikowany mechanizm łączący ze sobą różne ścieżki sygnałowe.

W przypadku zarodków myszy hodowanych *in vitro* w obecności BPA, Takai i wsp. zaobserwowali, że BPA w niskim stężeniu (1-3 nM) przyspiesza podziały zarodkowe i kawitację, podczas gdy stężenie wyższe (100 µM) – spowalnia je. Stężenia pośrednie BPA (10 nM-10 µM) nie wywarły z kolei znaczącego wpływu na te parametry [55,56]. Obserwacja ta świetnie ilustruje, jak duży wpływ na uzyskiwane wyniki może mieć zastosowane stężenie BPA (patrz też Tabela 2 zestawiająca warunki poszczególnych doświadczeń opisanych w tekście). Blastocysty uzyskane z zarodków traktowanych wszystkimi dawkami BPA przeanalizowanymi przez zespół Takai i wsp. miały poprawną morfologię i podobną liczbę komórek, co blastocysty kontrolne. Co ważne, dodanie do hodowli tamoksifenu, związku o działaniu antyestrogenowym, spowolniło rozwój przedimplantacyjny w grupach hodowanych z 1 i 3 nM BPA, potwierdzając, że BPA oddziałuje na komórki zarodków myszy poprzez receptory estrogenowe [55].

Negatywny wpływ BPA na przedimplantacyjny rozwój zarodków zaobserwowano także w układzie *in vivo*, gdy BPA był podawany samicom myszy doustnie bądź w zastrzykach w czasie pierwszych kilku dni ciąży. BPA hamował proces kawitacji i wykluwania się blastocyst z osłonki przejrzystej [50]. Co ciekawe, BPA prowadził też do spowolnienia/zahamowania transportu zarodków przez jajowody: w czwartym dniu po zapłodnieniu w macicach myszy traktowanych BPA znajdowano mniej zarodków niż w macicach samic kontrolnych, gdyż część zarodków wciąż znajdowała się w jajowodach. Wydaje się, że opóźnienie to, wraz ze spadkiem liczby uzyskiwanych blastocyst, może być jedną z przyczyn zmniejszonej liczby implantacji obserwowanych w macicach myszy traktowanych BPA [50,57]. Badania Xiao i wsp. sugerują, że inną przyczyną może być obniżenie receptywności błony śluzowej macicy, czyli jej gotowości do umożliwienia implantacji zarodka [57].

CZY BPA WPŁYWA NA PŁODNOŚĆ KOBIET?

Doświadczenia wykonane na modelach zwierzęcych, podobnie jak i nieliczne badania wykonane na ludzkich oocytach i komórkach pęcherzykowych *in vitro*, wskazują, że BPA może wpływać na płodność żeńską. Ale czy wy-

niki te dobrze oddają wpływ BPA na płodność u kobiet w warunkach fizjologicznych i przy stężeniach BPA rzeczywiście spotykanych w środowisku? Aby odpowiedzieć na te pytania przeprowadzono wiele badań, mających na celu znalezienie związku między stężeniem BPA w płynach ustrojowych kobiet a różnymi parametrami opisującymi ich płodność. Należy jednak pamiętać, że w zasadzie wszystkie te badania wykonano w klinikach leczenia niepłodności, a więc zazwyczaj dotyczyły specyficznej grupy kobiet/par, mających problemy z poczęciem dziecka.

Niestety, wyniki wspomnianych powyżej badań nad wpływem BPA na płodność kobiet są w dużej mierze sprzeczne. Niektórzy badacze wskazują na odwrotną korelację między stężeniem BPA w krwi, moczu lub płynie z pęcherzyków jajnikowych pacjentek, a ich płodnością, mierzoną jako liczba uzyskanych oocytów, zwłaszcza tych w stadium metafazy II [51,58–60], odsetek poprawnie zapłodnionych oocytów [58,61], jakość przedimplantacyjnego rozwoju zarodkowego [58,62], czy w końcu szansa na zakończenie procedury zapłodnienia *in vitro* ciążą [62]. Jednak inne zespoły takich zależności nie zaobserwowały [60,61,63–66]. Często opisuje się także odwrotny związek między stężeniem BPA w krwi lub w moczu, a szczytowym stężeniem estradiolu we krwi [58,59,63], choć i tę korelację część badaczy poddaje w wątpliwość [51,65–67]. Kontrowersje wzbudza też związek między podwyższonym stężeniem BPA w moczu kobiet, a obniżeniem ich rezerwy jajnikowej, czyli liczby dostępnych w kolejnych cyklach oocytów [51,67].

A zatem, choć badania na modelach zwierzęcych, zarówno w układzie *in vivo*, jak i *in vitro*, jasno wskazują na negatywny wpływ BPA na jakość oocytów i otrzymywanych z nich zarodków, to gdy zaczynamy analizować dane otrzymane w badaniach nad ludźmi, wyniki są już znacznie bardziej dwuznaczne. Ta różnica może oczywiście wynikać z niedoskonałości modeli zwierzęcych i doświadczeń *in vitro*, ich nieprzystawalności do warunków panujących w organizmie ludzkim. Warto tu zwrócić przede wszystkim uwagę na stosowane w doświadczeniach na zwierzętach stężenia BPA i ich środowiskową i fizjologiczną istotność: często są one wielokrotnie wyższe niż stężenia rzeczywiście mierzone w płynach fizjologicznych (istotne jest tu przede wszystkim stężenie BPA w płynie pęcherzykowym tworzącym środowisko otaczające oocyt w jajniku), czy niż szacunkowe dawki dziennego spożycia BPA, co obniża wartość uzyskanych wyników [9,68] (Tabela 1, 2). Co istotne, strach przed negatywnym wpływem BPA na nasze zdrowie (nie tylko aspekty powiązane z płodnością) powoduje, że coraz częściej zastępuje się go w produkcji tworzyw sztucznych innymi substancjami, np. bisfenolem S (BPS), bisfenolem B (BPB), bisfenolem F (BPF), bisfenolem AF (BPAF) czy fluoreno-9-bisfenolem (BHPF). Niestety, substancje te są o wiele słabiej przebadane pod kątem interakcji z organizmami ludzi czy zwierząt niż BPA, co stwarza ryzyko, że w trosce o swoje zdrowie wpadniemy z przysłowiowego deszczu pod przysłowiową (plastikową) rynnę.

PIŚMIENNICTWO

1. Global Bisphenol A Market Report 2018: Analysis 2013-2017 & Forecasts 2018-2023. (2018) <http://www.researchandmarkets.com>

2. Rogala D, Kulik-Kupka K, Spychała A, Śnieżek E, Janicka A, Moskalenko O (2016) Bisfenol A – niebezpieczny związek ukryty w tworzywach sztucznych. *Probl Hig Epidemiol* 97: 213–219
3. Acconcia F, Pallottini V, Marino M (2015) Molecular Mechanisms of Action of BPA. *Dose Response* 13: 155932581561058
4. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon J-P, Goeyens L, Lecomte P, i in. (2012) A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol* 50: 3725–3740
5. Calafat AM, Weuve J, Ye X, Jia LT, Hu H, Ringer S, i in. (2009) Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environ Health Perspect* 117: 639–644
6. Bushnik T, Haines D, Levallois P, Levesque J, Van Oostdam J, Viau C (2010) Lead and bisphenol A concentrations in the Canadian population. *Health Rep* 21: 7–18
7. Lakind JS, Levesque J, Dumas P, Bryan S, Clarke J, Naiman DQ (2012) Comparing United States and Canadian population exposures from National Biomonitoring Surveys: bisphenol A intake as a case study. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 22: 219–226
8. Koch HM, Kolossa-Gehring M, Schröter-Kermani C, Angerer J, Brüning T (2012) Bisphenol A in 24h urine and plasma samples of the German Environmental Specimen Bank from 1995 to 2009: a retrospective exposure evaluation. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 22: 610–616
9. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV (2007) Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol* 24: 139–177
10. Pivonello C, Muscogiuri G, Nardone A, Garifalos F, Provisiero DP, Verde N, i in. (2020) Bisphenol A: an emerging threat to female fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 18: 22
11. vom Saal FS, Vandenberg LN (2021) Update on the Health Effects of Bisphenol A: Overwhelming Evidence of Harm. *Endocrinology* 162: bqaa171
12. Sanders JR, Jones KT (2018) Regulation of the meiotic divisions of mammalian oocytes and eggs. *Biochem Soc Trans* 46: 797–806
13. Rimón-Dahari N, Yerushalmi-Heinemann L, Alyagor L, Dekel N (2016) Ovarian Folliculogenesis. W: Piprek RP (red.) *Molecular Mechanisms of Cell Differentiation in Gonad Development. Results and Problems in Cell Differentiation*, t. 58. Springer International Publishing, str. 167–190
14. White MD, Zenker J, Bissiere S, Plachta N (2018) Instructions for Assembling the Early Mammalian Embryo. *Dev Cell* 45: 667–679
15. Sabry R, Yamate J, Favetta L, LaMarre J. (2019) MicroRNAs: potential targets and agents of endocrine disruption in female reproduction. *J Toxicol Pathol* 32: 213–221
16. Handy DE, Castro R, Loscalzo J. (2011) Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease. *Circulation* 123: 2145–2156
17. Leśniak W (2018) Choroby rzadkie o podłożu epigenetycznym. *Postępy Biochem* 64: 330–337
18. Wang T, Han J, Duan X, Xiong B, Cui X-S, Kim N-H, i in. (2016) The toxic effects and possible mechanisms of Bisphenol A on oocyte maturation of porcine *in vitro*. *Oncotarget* 7: 32554–32565
19. Guo J, Zhao M-H, Shin K-T, Niu Y-J, Ahn Y-D, Kim N-H, i in. (2017) The possible molecular mechanisms of bisphenol A action on porcine early embryonic development. *Sci Rep* 7: 8632
20. Chao H-H, Zhang X-F, Chen B, Pan B, Zhang L-J, Li L, i in. (2012) Bisphenol A exposure modifies methylation of imprinted genes in mouse oocytes *via* the estrogen receptor signaling pathway. *Histochem Cell Biol* 137: 249–259
21. Trapphoff T, Heiligentag M, El Hajj N, Haaf T, Eichenlaub-Ritter U (2013) Chronic exposure to a low concentration of bisphenol A during follicle culture affects the epigenetic status of germinal vesicles and metaphase II oocytes. *Fertil Steril* 100: 1758–1767.e1
22. Susiarjo M, Sasson I, Mesaros C, Bartolomei MS (2013) Bisphenol A Exposure Disrupts Genomic Imprinting in the Mouse. *Kelsey G, redaktor. PLoS Genet* 9: e1003401
23. Rodosthenous RS, Baccarelli AA, Mansour A, Adir M, Israel A, Racowsky C, i in. (2019) Supraphysiological Concentrations of Bisphenol A Alter the Expression of Extracellular Vesicle-Enriched miRNAs From Human Primary Granulosa Cells. *Toxicol Sci* 169: 5–13
24. Sabry R, Saleh AC, Stalker L, LaMarre J, Favetta LA (2021) Effects of bisphenol A and bisphenol S on microRNA expression during bovine (*Bos taurus*) oocyte maturation and early embryo development. *Reprod Toxicol* 99: 96–108
25. Li Q, Zhao Z (2019) Influence of N-acetyl-L-cysteine against bisphenol a on the maturation of mouse oocytes and embryo development: *in vitro* study. *BMC Pharmacol Toxicol* 20: 43
26. Park H-J, Park S-Y, Kim J-W, Yang S-G, Kim M-J, Jegal H-G, i in. (2018) Melatonin Improves Oocyte Maturation and Mitochondrial Functions by Reducing Bisphenol A-Derived Superoxide in Porcine Oocytes *In Vitro*. *Int J Mol Sci* 19: 3422
27. Zhang M, Dai X, Lu Y, Miao Y, Zhou C, Cui Z, i in. (2017) Melatonin protects oocyte quality from Bisphenol A-induced deterioration in the mouse. *J Pineal Res* 62: e12396
28. Hornos Carneiro MF, Shin N, Karthikraj R, Barbosa F, Kannan K, Colaiácovo MP (2020) Antioxidant CoQ10 Restores Fertility by Rescuing Bisphenol A-Induced Oxidative DNA Damage in the *Caenorhabditis elegans* Germline. *Genetics* 214: 381–395
29. Russell DL, Gilchrist RB, Brown HM, Thompson JG (2016) Bidirectional communication between cumulus cells and the oocyte: Old hands and new players? *Theriogenology* 86: 62–68.
30. Acuña-Hernández DG, Arreola-Mendoza L, Santacruz-Márquez R, García-Zepeda SP, Parra-Forero LY, Olivares-Reyes JA, i in. (2018) Bisphenol A alters oocyte maturation by prematurely closing gap junctions in the cumulus cell-oocyte complex. *Toxicol Appl Pharmacol* 344: 13–22
31. Sabry R, Apps C, Reiter-Saunders JA, Saleh AC, Balachandran S, St. John EJ, i in. (2021) BPA and BPS Affect Connexin 37 in Bovine Cumulus Cells. *Genes* 12: 321
32. Lin T, Wang K, Chuang K, Kao A, Kuo T (2021) Downregulation of gap junctional intercellular communication and connexin 43 expression by bisphenol A in human granulosa cells. *Biotechnol Appl Biochem* 68: 676–682
33. Campen KA, Kucharczyk KM, Bogin B, Ehrlich JM, Combelles CMH (2018) Spindle abnormalities and chromosome misalignment in bovine oocytes after exposure to low doses of bisphenol A or bisphenol S. *Hum Reprod* 33: 895–904
34. Can A, Semiz O, Cinar O (2005) Bisphenol-A induces cell cycle delay and alters centrosome and spindle microtubular organization in oocytes during meiosis. *Mol Hum Reprod* 11: 389–396
35. Eichenlaub-Ritter U, Vogt E, Cukurcam S, Sun F, Pacchierotti F, Parry J (2008) Exposure of mouse oocytes to bisphenol A causes meiotic arrest but not aneuploidy. *Mutat Res* 651: 82–92
36. Ferris J, Favetta LA, King WA (2015) Bisphenol A Exposure during Oocyte Maturation *in vitro* Results in Spindle Abnormalities and Chromosome Misalignment in *Bos taurus*. *Cytogenet Genome Res* 145: 50–58
37. Lenie S, Cortvrindt R, Eichenlaub-Ritter U, Smitz J (2008) Continuous exposure to bisphenol A during *in vitro* follicular development induces meiotic abnormalities. *Mutat Res* 651: 71–81
38. Machtinger R, Combelles CMH, Missmer SA, Correia KF, Williams P, Hauser R, i in. (2013) Bisphenol-A and human oocyte maturation *in vitro*. *Hum Reprod* 28: 2735–2745
39. Wang X, Jiang S-W, Wang L, Sun Y, Xu F, He H, i in. (2018) Interfering effects of bisphenol A on *in vitro* growth of preantral follicles and maturation of oocytes. *Clin Chim Acta* 485: 119–125
40. Nakano K, Nishio M, Kobayashi N, Hiradate Y, Hoshino Y, Sato E, i in. (2016) Comparison of the effects of BPA and BPAF on oocyte spindle assembly and polar body release in mice. *Zygote* 24: 172–180
41. Yang L, Baumann C, De La Fuente R, Viveiros MM (2020) Mechanisms underlying disruption of oocyte spindle stability by bisphenol compounds. *Reproduction* 159: 383–396
42. Pacchierotti F, Ranaldi R, Eichenlaub-Ritter U, Attia S, Adler I-D (2008) Evaluation of aneugenic effects of bisphenol A in somatic and germ cells of the mouse. *Mutat Res* 651: 64–70

43. Fahrenkamp E, Algarra B, Jovine L (2020) Mammalian egg coat modifications and the block to polyspermy. *Mol Reprod Dev* 87: 326–340
44. Bianchi E, Doe B, Goulding D, Wright GJ (2014) Juno is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature* 508: 483–487
45. Moore-Ambriz TR, Acuña-Hernández DG, Ramos-Robles B, Sánchez-Gutiérrez M, Santacruz-Márquez R, Sierra-Santoyo A, i in. (2015) Exposure to bisphenol A in young adult mice does not alter ovulation but does alter the fertilization ability of oocytes. *Toxicol Appl Pharmacol* 289: 507–514
46. Ducibella T, Schultz RM, Ozil J-P (2006) Role of calcium signals in early development. *Semin Cell Dev Biol* 17: 324–332
47. Mohri T, Yoshida S (2005) Estrogen and bisphenol A disrupt spontaneous [Ca²⁺]_i oscillations in mouse oocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 326: 166–173
48. Ferris J, Mahboubi K, MacLusky N, King WA, Favetta LA (2016) BPA exposure during *in vitro* oocyte maturation results in dose-dependent alterations to embryo development rates, apoptosis rate, sex ratio and gene expression. *Reprod Toxicol* 59: 128–138
49. Saleh AC, Sabry R, Mastromonaco GF, Favetta LA (2021) BPA and BPS affect the expression of anti-Mullerian hormone (AMH) and its receptor during bovine oocyte maturation and early embryo development. *Reprod Biol Endocrinol* 19: 119
50. Pan X, Wang X, Sun Y, Dou Z, Li Z (2015) Inhibitory effects of preimplantation exposure to bisphenol - A on blastocyst development and implantation. *Int J Clin Exp Med* 8: 8720–8729
51. Lin M, Hua R, Ma J, Zhou Y, Li P, Xu X, i in. (2021) Bisphenol A promotes autophagy in ovarian granulosa cells by inducing AMPK/mTOR/ULK1 signalling pathway. *Environ Int* 147: 106298
52. Briño-Enríquez MA, Robles P, Camats-Tarruella N, García-Cruz R, Roig I, Cabero L, i in. (2011) Human meiotic progression and recombination are affected by Bisphenol A exposure during *in vitro* human oocyte development. *Hum Reprod* 26: 2807–2818
53. Mlynářčiková A, Nagyová E, Ficková M, Scsuková S (2009) Effects of selected endocrine disruptors on meiotic maturation, cumulus expansion, synthesis of hyaluronan and progesterone by porcine oocyte-cumulus complexes. *Toxicol In Vitro* 23: 371–377
54. Choi B-I, Harvey AJ, Green MP (2016) Bisphenol A affects early bovine embryo development and metabolism that is negated by an oestrogen receptor inhibitor. *Sci Rep* 6: 29318
55. Takai Y, Tsutsumi O, Ikezaki Y, Hiroi H, Osuga Y, Momoeda M, i in. (2000) Estrogen Receptor-Mediated Effects of a Xenoestrogen, Bisphenol A, on Preimplantation Mouse Embryos. *Biochem Biophys Res Commun* 270: 918–921
56. Takai Y, Tsutsumi O, Ikezaki Y, Kamei Y, Osuga Y, Yano T, i in. (2001) Preimplantation exposure to bisphenol A advances postnatal development. *Reprod Toxicol* 15: 71–74
57. Xiao S, Diao H, Smith MA, Song X, Ye X (2011) Preimplantation exposure to bisphenol A (BPA) affects embryo transport, preimplantation embryo development, and uterine receptivity in mice. *Reprod Toxicol* 32: 434–441
58. Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, Flaws JA, Ye X, Calafat AM, i in. (2012) Urinary bisphenol A concentrations and early reproductive health outcomes among women undergoing IVF. *Hum Reprod* 27: 3583–3592
59. Mok-Lin E, Ehrlich S, Williams PL, Petrozza J, Wright DL, Calafat AM, i in. (2010) Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *Int J Androl* 33: 385–393
60. Radwan P, Wielgomas B, Radwan M, Krasirski R, Klimowska A, Kaleta D, i in. (2020) Urinary bisphenol A concentrations and *in vitro* fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Reprod Toxicol* 96: 216–220
61. Fujimoto VY, Kim D, vom Saal FS, Lamb JD, Taylor JA, Bloom MS (2011) Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 95: 1816–1819
62. Yenigül NN, Dilbaz S, Dilbaz B, Kaplanoglu İ, Güçel F, Aldemir O, i in. (2021) The effect of plastic bottled water consumption on outcomes of ICSI cycles undertaken for unexplained infertility. *Reprod Biomed Online* 43: 91–99
63. Bloom MS, Kim D, vom Saal FS, Taylor JA, Cheng G, Lamb JD, i in. (2011) Bisphenol A exposure reduces the estradiol response to gonadotropin stimulation during *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 96: 672–677. e2
64. Poormoosavi SM, Behmanesh MA, Janati S, Najafzadehvarzi H (2019) Level of Bisphenol A in Follicular Fluid and Serum and Oocyte Morphology in Patients Undergoing IVF Treatment. *J Fam Reprod Health* 13: 154–159
65. Kim H-K, Ko D-H, Lee W, Kim K-R, Chun S, Song J, i in. (2021) Body fluid concentrations of bisphenol A and their association with *in vitro* fertilization outcomes. *Hum Fertil* 24: 199–207
66. Mínguez-Alarcón L, Gaskins AJ, Chiu Y-H, Williams PL, Ehrlich S, Chavarro JE, i in. (2015) Urinary bisphenol A concentrations and association with *in vitro* fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Hum Reprod* 30: 2120–2128
67. Czubacka E, Wielgomas B, Klimowska A, Radwan M, Radwan P, Karwacka A, i in. (2021) Urinary Bisphenol A Concentrations and Parameters of Ovarian Reserve among Women from a Fertility Clinic. *Int J Environ Res Public Health* 18: 8041.
68. EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF) (2015) Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA J* 13: 3978

Plastic – (not) fantastic? Impact of bisphenol A on functioning of mammalian oocytes and embryos

Anna Ajduk✉, Magdalena Sadkowska, Zuzanna Gronek, Aleksandra Płocienniak, Alicja Stodulska

Department of Embryology, Institute of Developmental Biology and Biomedical Sciences, Faculty of Biology, University of Warsaw, Warsaw, Poland

✉corresponding author: aajduk@biol.uw.edu.pl

Key words: bisphenol A, xenoestrogen, oocyte, embryo, fertility

ABSTRACT

Bisphenol A is a monomeric organic compound belonging to phenols. It is widely used in the production of resins, polycarbonates and plastics. Mass production of this compound contributed to its widespread presence in the environment, and thus - in the organisms of animals and humans. BPA belongs to xenoestrogens, synthetic compounds exerting an estrogen-like effect on cells. BPA can therefore disrupt the functioning of animal (including human) organisms. This article focuses on the impact of BPA on selected aspects of mammalian fertility. Recent literature data indicate that BPA disturbs several processes in oocytes and embryos, including epigenetic modifications, energy metabolism and spindle assembly, and as a result, decreases their developmental competence. We discuss the latest data on the influence of BPA on cellular processes taking place in oocytes and early embryos and describe molecular mechanisms responsible for this effect. We also discuss the significance of the results obtained from experiments conducted *in vitro* and/or on animal models in the context of BPA impact on fertility of women.

