

OHROZUJE ENVIRONMENTÁLNY POLUTANT BISFENOL A ZDRAVIE ČLOVEKA?

IVANA ĎUROVCOVÁ, JANA ŠPAČKOVÁ,
 ĽUDMILA HOLUBOVÁ, STANISLAV KYZEK,
 ELIŠKA GÁLOVÁ a ANDREA ŠEVČOVIČOVÁ

Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra genetiky, Ilkovičova 6, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava

andrea.sevcovicova@uniba.sk

Došlo 5.6.19, prijaté 2.9.19.

Kľúčové slová: polykarbonátové plasty, bisfenol A, endokrinná disrupcia, expresia génov, genotoxický účinok

Obsah

1. Úvod
2. Charakteristika a produkcia BPA
 - 2.1. Uvoľňovanie BPA do prostredia
 - 2.2. Uvoľňovanie BPA do bunky
 - 2.3. Metabolizmus BPA
3. Pôsobenie BPA v ľudskom organizme
 - 3.1. BPA a endokrinná disrupcia
 - 3.2. Vplyv BPA na delenie buniek
 - 3.3. Zmena expresie génov
 - 3.3.1. Zmena expresie génov pre receptor tyroidného hormónu po pôsobení BPA
 - 3.3.2. Epigenetická zmena expresie génov pôsobením BPA
 - 3.3.3. BPA a vývin rakoviny
 - 3.4. Genotoxický účinok BPA
4. Záver

1. Úvod

Bisfenol A (BPA) našiel široké uplatnenie v priemyselnej výrobe, kde slúži ako hlavná zložka pri výrobe polykarbonátových plastov a niektorých epoxidových živíc. S jeho používaním sa postupne začali objavovať náznaky, že sa z produktov, ktorých je súčasťou, dokáže uvoľňovať a kontaminovať potraviny a zložky životného prostredia. Tieto informácie boli podnetom pre začatie štúdia vplyvu BPA na organizmy. Viaceré štúdie konštatujú, že BPA môže blokovat' delenie buniek, a tým pôsobiť cytotoxicky. Môže tiež podporovať transformáciu zdravých buniek na nádorové alebo môže pôsobiť ako endokrinný disruptor a v organizme spúšťať rôzne nežiaduce fyziologické odpovede, napr. srdcová

arytmia¹, metabolický syndróm², degenerácia nervových buniek³ alebo zmeny správania⁴. Zároveň vzniká množstvo genotoxikologických štúdií, ktorých výsledky nie sú vždy jednoznačné, čím sa stávajú kontroverznými. Vplyv BPA na genetický aparát bunky zostáva teda stále neobjasnený, a preto je nutné upriamiť vedecké bádanie na bezpečnosť BPA z genotoxikologického hľadiska.

2. Charakteristika a produkcia BPA

BPA je biela kryštalická tuhá látka s bodom topenia pri 156 °C a bodom varu 220 °C pri tlaku 5 hPa. Zo štruktúrneho hľadiska ide o kondenzát acetónu s dvoma molekulami fenolu. Molekula teda disponuje dvoma fenolovými hydroxylmi, ktoré zároveň určujú dobrú reaktivitu BPA. Podobne ako iné fenoly môže byť BPA konvertovaný na étery, estery a soli⁵. BPA navyše môže podliehať aromatickým elektrofilným substitúciám, akými sú nitrácia, sulfonylácia alebo alkylácia^{6,7}. Príprava BPA je podmienená prítomnosťou silnej kyseliny a prítomnosťou katalyzátora v reakcii⁸. Rozdeľovací koeficient (oktan-1-ol/voda) pre BPA predstavuje 3,32 (logP = 3,32), čo naznačuje jeho dobrú rozpustnosť v tukoch, no nízku rozpustnosť vo vode (okolo 200 mg dm⁻³ pri 25 °C).

BPA bol prvýkrát vyrobený v roku 1891 ruským chemikom Aleksandrom P. Dianinom, ktorý ho nasynetizoval ako organický estrogén s účinkami estrónu, minoritného ženského pohlavného hormónu. Počiatky využívania BPA v 30. rokoch 20. storočia sa viažu na výskum zameraný na stimuláciu pohlavného systému u samíc potkanov. Až neskôr sa začala jeho priemyselná produkcia spojená s výrobou polykarbonátových plastov a epoxidových živíc⁹. Polykarbonátové plasty sa u spotrebiteľov stali obľúbeným materiálom kvôli viacerým vlastnostiam, akými sú pružnosť, ľahkosť a mechanická odolnosť, ktoré mu poskytnújú výhodu oproti tradične používanému sklu¹⁰. Dnes predstavuje ročná produkcia BPA vyše 3600 ton, čím sa zaradil medzi najviac používané chemikálie na svete¹¹. Najväčšie využitie mal a stále má BPA pri produkcii bežných plastových výrobkov, akými sú niektoré typy plastových fliaš, jednorazové poháre, príbory, slamky a tégliky alebo dózy na potraviny. Nachádza sa však aj v niektorých detských hračkách, športových ochranných pomôckach, CD či DVD diskoch^{6,12}. Časté je jeho využitie pri výrobe zdravotníckeho materiálu a pomôcok, medzi ktoré patria stomatologické výplne, hadičky používané pri odbere krvi či pri napojení pacienta na umelé dýchanie^{6,12,13}. BPA je okrem toho zložkou termocitlivého papiera, ktorý sa používa pri tlačených účteniek z registračných pokladníc¹⁴. Používanie BPA pri výrobe dojčenských fliaš je však v súčasnosti zakázané¹⁵. Vnútorne steny konzerv, plechoviek, vodovodných potrubí a hadíc obsahujú epoxidové živice,

ktoré sú v tomto prípade kopolymérami BPA a epichlórhyd-
rínu¹⁶. Takéto široké zastúpenie BPA v priemyselnej vý-
robe znamená aj hromadenie veľkého množstva ťažko rozlo-
žiteľného plastového odpadu v prírode.

2.1. Uvoľňovanie BPA do prostredia

Plasty majú dlhú životnosť, a preto trvá veľmi dlho,
kým vymiznú z nášho okolia a prostredia. Niektoré kom-
ponenty plastov sa môžu rozkladať stovky až tisícky ro-
kov¹⁷. Plasty tak predstavujú jeden z najväčších zdrojov
znečisťovania životného prostredia. Napriek tomu sa BPA
naďalej používa v priemyselnej výrobe pre vhodný pomer
medzi jeho vlastnosťami a výrobnými nákladmi. Na druhej
strane pribúdajúce vedecké publikácie poskytujú dôkazy
o schopnosti BPA uvoľňovať sa z výrobkov, ktoré ho ob-
sahujú, čo vzbudzuje pochybnosti o jeho bezpečnosti.

Uvoľňovanie BPA z polykarbonátových plastov je
efektívnejšie po pôsobení rozličných faktorov, akými sú
UV svetlo, teplo, vek plastu a kontakt s kyslými alebo
zásaditými zložkami prostredia¹⁸. Dôsledkom pôsobenia
týchto faktorov dochádza k hydrolýze esterovej väzby¹⁹,
ktorá spája molekuly BPA do polykarbonátových plastov,
následkom čoho môže voľný BPA migrovať do jedla alebo
prostredia²⁰.

Miesta s vysokou prašnosťou a vysokým obsahom
automobilových exhalátov či okolie priemyselných parkov
zameraných najmä na chemickú a textilnú výrobu sú mies-
tami, kde môžeme BPA vo zvýšenej miere vdychovať²¹.
Okrem toho uniká z odpadových skládok a likvidáciou
odpadov z plastových produktov isté množstvo BPA, ktoré
sa tak v stopovom množstve môže dostať priamo do vod-
ných zdrojov a atmosféry^{22,23}. To smeruje k bioakumulácii
plastových častíc v prostredí a postupne aj k biotransportu
k vyšším organizmom^{24,25}.

BPA má lipofilný charakter, teda má predpoklady
ukladať sa v tkanivách organizmov. V mnohých štúdiách
dokázali prítomnosť určitého množstva BPA u ľudí v krvi,
moči, amniotickej a folikulárnej tekutine, v placentе
a pupočníkovej krvi⁶.

Kvôli narastajúcemu množstvu publikácií, ktoré po-
stupne odhaľujú potenciálne nepriaznivé pôsobenie BPA
na živé organizmy Európsky úrad pre bezpečnosť potravín
(EFSA) prehodnotil v roku 2015 maximálnu dennú dávku
prijateľného BPA z 50 na 4 $\mu\text{g kg}^{-1}$ telesnej hmotnosti²⁶. Me-
dzi odborníkmi však stále prebieha diskusia, či je táto dáv-
ka dostatočným bezpečnostným opatrením v snahe ochrá-
niť ľudské zdravie. V súčasnosti sa tiež pristupuje
k používaniu bisfenolových náhrad, akými sú analógy
BPA – BPS (bisfenol S), BPF (bisfenol F) alebo BPAF
(bisfenol AF)²⁷. Zistilo sa, že tieto analógy BPA
v testovaných koncentráciách nižších ako 10^{-5} mol l^{-1} po
24 až 72 h kultivácii nemali významný vplyv na životas-
chopnosť ovariálnych granulóznych buniek ošipaných.
Len najvyššia testovaná koncentrácia 10^{-5} mol l^{-1} analó-
gov mierne znižovala životaschopnosť buniek²⁸. Výsledky
iných štúdií však naznačujú, že analógy BPA (BPAF,
BPS) vykazujú podobnú estrogénovú aktivitu ako
BPA^{29,30}. Rýchle zavedenie analógov BPA do praxe by

preto mohlo viesť k tomu, že bez dostatočných poznatkov
o interakcii týchto látok s bunkami budeme vystavovaní
ďalšej potenciálnej hrozbe pre naše zdravie.

2.2. Uvoľňovanie BPA do bunky

Estrogén je jedným z kľúčových steroidných hormó-
nov prítomných v ľudskom organizme, ktorý riadi mnohé
pochody cez vnútrobunkovú signalizáciu prostredníctvom
tzv. druhých poslov. Mnohé účinky estrogénu ako
transkripčného faktora boli dlho asociované s klasickými
jadrovými steroidnými receptormi (ER α a ER β). Zmenu
prinieslo poznanie, že v membráne buniek je umiestnený
transmembránový GPER30 receptor (z angl. G protein –
coupled estrogen receptor) so 7 transmembránovými do-
ménami, ktorý reaguje na prítomnosť estrogénu a spúšťa
rýchlu bunkovú signalizáciu³¹. BPA sa k receptoru
GPER30 viaže tiež, avšak s oveľa nižšou relatívnou väz-
bovou silou, ktorá predstavuje len 2 % oproti estrogénu³².
Receptor GPER30, ktorý v bunkách zodpovedá za rýchle
sprostredkovanie negenomickej odpovede na estrogénový
stimul, bol lokalizovaný aj v býčích spermiiach, nadsemen-
níkoch a po ejakulácii aj v apikálnej časti hlavičky
spermie³³. Zistilo sa tiež, že expozícia BPA negatívne
vplyva na parametre kvality mužského semena, medzi
ktoré patria koncentrácia, počet, vitalita a motilita
spermii³⁴.

2.3. Metabolizmus BPA

Väčšina BPA, ktorý sa organizmom absorbuje, sa
následne metabolicky konvertuje pomocou UDP-
glukuronidtransferázy v pečeni a črevnom epiteli na BPA-
glukuronid. BPA sa týmto procesom stáva hydrofilnejším,
čo umožňuje jeho jednoduchšie vylúčenie z tela prostre-
dníctvom moču³⁵. Ďalším metabolitom BPA, ktorý môže
v tele vznikáť až po nasýtení glukuronidačnej dráhy
a pravdepodobne po podaní vyššej dávky BPA, je bis-
fenol A-sulfát⁵.

3. Pôsobenie BPA v ľudskom organizme

3.1. BPA a endokrinná disrupcia

Jedným z dokázaných účinkov BPA na živé organiz-
my je mechanizmus endokrinnnej disrupcie u tých organiz-
mov, ktoré majú vyvinutý endokrinný systém³⁶. Kvôli
schopnosti endokrinnnej disrupcie sa BPA zaraďuje medzi
látky označované ako EDC (z angl. endocrine disrupting
compounds), ktoré sa vyznačujú tým, že sú schopné naru-
šiť prirodzený endokrinný systém napodobňovaním, blo-
kovaním alebo zmenou funkcie hormónov tohto systému.
Takýto zásah do fungovania zdravého hormonálneho sys-
tému sa môže negatívne prejaviť na zdraví jedinca^{36,37}.

Molekulárne mechanizmy, ktorými pôsobí BPA
ako endokrinný disruptor, sú v súčasnosti veľmi dobre
definované³⁸. Molekula BPA sa svojou štruktúrou podobá
molekule estrogénu, čo jej umožňuje naviazať sa na estro-

génový receptor, konkrétne na jeho dva podtypy (ER α a ER β). Napriek tomu vykazuje BPA 1000- až 2000-krát nižšiu afinitu k estrogénovým receptorom ako estradiol (E2), ktorý predstavuje najaktívnejší estrogén^{39,40}. Obidva ER α aj ER β patria do skupiny jadrových receptorov, ktoré fungujú ako transkripčné faktory a špecificky regulujú expresiu cieľových génov zapojených do metabolických, vývinových a reprodukčných procesov⁴¹. Tieto receptory sú funkčné len v prítomnosti ligandu, po naviazaní ktorého sa zmení ich konformácia a presunú sa do jadra, kde interagujú s koaktivátormi a korepresormi v promótorovej oblasti cieľových génov, čím regulujú génovú expresiu^{40,42}. Exogénny ligand obsahuje dva α -helixy tvoriace ligand – viažúcu doménu (LBD) pre oba podtypy ER^{43,44}. Priestorové usporiadanie E2 predstavuje štruktúru potrebnú pre väzbu LBD do obidvoch miest estrogénového receptora. BPA sa v mieste väzby k ER α správa ako agonista, čím napodobňuje E2, zatiaľ čo v mieste väzby k ER β sa správa ako antagonist. Správne umiestnenie LBD domén je preto nevyhnutnou podmienkou pre aktivitu BPA potrebnú na reguláciu transkripcie. Preto vďaka dvojitej možnosti prestavby LBD domén po naviazaní na ER môže BPA spôsobiť koaktiváciu alebo naopak korepresiu génovej expresie vzhľadom na jeho agonistickú alebo antagonistickú aktivitu⁴⁵.

3.2. Vplyv BPA na delenie buniek

BPA (v koncentráciách 10^{-6} μ M – 10 μ M) dokáže zvýšiť schopnosť delenia ľudských rakovinových buniek maternice (ht-UtLM)⁴⁶. Tým sa len potvrdzuje, že BPA ako xenoestrogén dokáže už pri nízkych hladinách ovplyvniť rast a proliferáciu buniek. Je to umožnené tým, že BPA dokáže vyvolať rýchlu bunkovú odpoveď využitím ER ukotvených do membrány. Okrem vyššie spomínaného GPER30 receptora, ďalším ER asociovaným s membránou je ER α 36 (cit.³⁸). Ide o receptor citlivý na estrogény, ktorý sa zúčastňuje početných dráh podieľajúcich sa na bunkovej proliferácii a delení bunky, na jej prežití (má úlohu v antiapoptickej dráhe) a na metastáznom bujení v prípade progresu rakoviny prsníka^{47,48}.

Výsledky štúdie⁴⁶ podľa všetkého potvrdzujú interakciu BPA s membránovým receptorom ER α 36 v cytosóle, ktorá nastáva pomocou domény LBD. Už nízke dávky BPA stimulovali expresiu génu pre ER α 36 receptor, čo viedlo k spusteniu S-fázy bunkového cyklu. Spolu so zvýšenou expresiou ER α 36 nastala aj zvýšená fosforylácia tyrozínu protoonkogénu Src a epidermálneho rastového faktora EGFR, čo potvrdzuje významnú úlohu ER α 36 v signalizácii bunkového delenia rakovinových buniek maternice. Fosforylácia Src a EGFR ďalej viedla k zvýšenej regulácii asociovaných signálnych komplexov (akými sú molekuly SOS1-antiportér pre Na⁺/H⁺ zabezpečujúci osmotickú rovnovahu, signálne molekuly Grb2 a Ras), čo viedlo k aktivácii „downstream“ efektorov MAPKp44/42. To následne spôsobilo posun bunkového cyklu buniek nezhubného nádoru hladkej svaloviny vstupom bunky do S-fázy z pôvodnej G0-G1 fázy.

3.3. Zmena expresie génov

3.3.1. Zmena expresie génov pre receptor tyroidného hormónu po pôsobení BPA

Správna funkcia tyroidného hormónu (TH), tyroxínu (T4) a trijódtyronínu (T3) je nevyhnutnou podmienkou pre normálny vývin mozgu ľudí a zvierat. V prípade ich nízkej produkcie môže dôjsť k rôznym kognitívnym poruchám. Preto narušenie TH signálnej dráhy látkou akou je BPA, a to najmä počas kritických vývinových štádií života, môže pozmeniť vývin jedinca⁴⁹.

Klasický mechanizmus TH zahŕňa zvýšenie hladiny TH, nasleduje prístup T3 do bunkového jadra a vytvorenie komplexu hormónu s jadrovým tyroidným receptorom (TR). Po naviazaní T3 dochádza k odstráneniu korepresorov a aktivácii koaktivátorov, čím sa spustí transkripcia príslušných génov hormonálnej odpovede⁵⁰.

Aj nízke koncentrácie BPA (10^{-3} μ M) zabraňujú transkripcii TR a jeho steroidného koaktivátora-1 (SRC-1)⁴⁹. Výsledky však naznačujú, že potlačenie transkripcie TR spôsobené BPA nevzniklo prerušením interakcie medzi TR a SRC-1. BPA v podmienkach *in vivo* priamo nezabraňuje aktivácii transkripcie TR prostredníctvom SRC-1, ale pravdepodobne účinkuje cez viacero receptorov, akými sú napríklad integrín α 3 β a GPER30. Integrín sa podieľa na prenose mnohých signálov a to aj do extracelulárnej matrix (ECM)⁵¹. Spomínané membránové receptory sa nachádzajú v rôznych typoch buniek a tiež v rôznych vývinových štádiách^{16,38}, preto BPA môže pôsobiť na širokú škálu buniek.

3.3.2. Epigenetická zmena expresie génov pôsobením BPA

Epigenetické zmeny po pôsobení BPA môžu viesť k zníženej funkcii pankreasu⁵². Výsledky experimentov tejto štúdie ukázali, že ovplyvnenie samcov F1 generácie, ktorých matky boli vystavené pôsobeniu BPA (40 μ g/kg/deň) počas tehotenstva a dojčenia, môže poškodiť bunkovú toleranciu na glukózu a samotnú ultraštruktúru pankreatických buniek aj u F2 generácie. S bližším zameraním na epigenetický mechanizmus pôsobenia sa zistila abnormálna expresia génu Igf2 (má kľúčovú úlohu vo vývine pankreatických β buniek), ktorá súvisela so zvýšenou metyláciou CpG ostrovčekov histónu H19 Igf2 génu v F2 generácii. Takto zmenená expresia génu bola dokázaná aj v spermatických bunkách dospelých samcov F1 generácie, čo len potvrdilo epigenetické pôsobenie v zárodočných bunkách.

Medzi dôkazy podporujúce súvislosť medzi expozíciou xenoestrogénmi a vznikom ľudských ochorení patrí aj výskum⁵³, ktorý dokázal súvislosť medzi expozíciou BPA v skorých štádiách života (dávka 0,1 μ g BPA/mláďa subkutánne v 1., 3. a 5. deň po narodení alebo 10 μ g BPA/kg) a vznikom rakoviny prostaty u potkanov, ktorá je sprostredkovaná preprogramovaním epigenómu buniek prostaty. Na základe výsledkov tohto výskumu sa dá predpokladať, že BPA je schopný meniť metylačný profil buniek, a tým ovplyvňovať expresiu génov, čo za istých okolností môže viesť k vzniku rakoviny.

3.3.3. BPA a vývin rakoviny

Pri študovaní vplyvu BPA na expresiu homeoboxu HOXB-9 sa zistilo, že jej deregulácia je asociovaná so vznikom rakoviny prsníka⁵⁴. HOXB-9 je homeobox nachádzajúci sa v rámci génu, ktorý je kľúčovým faktorom pre správny vývin mliečnych žliaz u žien⁵⁵. Expresia HOXB-9 je v podmienkach *in vitro* aj *in vivo* indukovaná steroidným hormónom E2, preto sa predpokladalo, že BPA patriaci do skupiny endokrinných disruptorov bude tiež meniť expresiu HOXB-9. Testované koncentrácie BPA boli v rozsahu 0–1000 nM a bunky karcinómu prsníka mu boli vystavené po dobu 6 h. Zvýšená expresia HOXB-9 v bunkách túto hypotézu potvrdila a ukázala, že EDC môžu modifikovať špecifické sekvencie DNA, ktoré slúžia ako transkripčné faktory, a meniť tak expresiu dôležitých génov.

Hui a spol.⁵⁶ skúmali vplyv BPA na expresiu génov zapojených do vývinu rakoviny vaječníkov. Prostredníctvom transkriptomického analýzy buniek adenokarcinómu vaječníkov sa zistilo, že pôsobením BPA sa mení expresia 94 génov, ktoré sú zodpovedné za riadenie procesu tumorigenézy a metastázy. Okrem toho BPA podporuje prechod buniek z epiteliálnej na mezenchýmovú formu, ktorý je charakteristický pre postup rakovinového ochorenia⁵⁶. Ide o proces, v ktorom epiteliálne bunky primárneho nádoru strácajú bunkovú polaritu a medzibunkové kontakty, menia štruktúru cytoskeletu a získavajú prechodnú mezenchýmovú formu so zvýšenou pohyblivosťou. Takéto bunky majú schopnosť prejsť do lúmenu krvných alebo lymfatických ciev a nadobudnúť tak typické vlastnosti nádorových kmeňových buniek (schopnosť sebaobnovy, dormancie, účinnej opravy DNA alebo rezistencie na liečbu)⁵⁷. Hui a spol.⁵⁶ výsledkami svojej štúdie podporili hypotézu, že aj nízke (environmentálne) dávky BPA (10 a 100 nM) môžu byť zodpovedné za spustenie rakovinového procesu v bunkách vaječníkov.

3.4. Genotoxický účinok BPA

Pri skúmaní genotoxického pôsobenia BPA na ľudské lymfocyty kométovým testom sa zistilo, že BPA zvyšuje migráciu DNA z jadier do chvosta komét (migrácia koreluje s poškodením DNA), pričom tento účinok rastie so stúpajúcou koncentráciou BPA (0,001–2,5 mM). Po ošetrení týchto buniek bakteriálnym reparačným enzýmom Fpg (formamidopyrimidín-DNA glykozyláza), ktorý v reťazci DNA rozpoznáva oxidované puríny, sa navyše zistilo, že poškodenia, ktoré BPA v lymfocytoch indukuje, sú oxidačného charakteru⁵⁸. Tieto zistenia podporujú aj výsledky prietokovej cytometrie⁵⁹, pri ktorej sa zaznamenalo zvyšujúce sa množstvo ROS v bunkách *Schizosaccharomyces pombe* po ovplyvnení BPA (0,75 mM a 0,85 mM). Autori zároveň pozorovali zastavenie bunkového cyklu a vyslovili hypotézu, že k nemu môže dôjsť práve kvôli poškodeniu DNA, ktoré vzniklo v dôsledku nahromadenia ROS. Štúdia tak po prvýkrát priniesla poznatok o možnom mechanizme toxicity BPA u organizmov, ktoré nemajú prítomný estrogénový receptor⁵⁹. Na základe oboch týchto štúdií^{58,59} môžeme konsta-

tovať, že BPA spôsobuje v živom systéme oxidačný stres zvyšovaním množstva ROS v bunkách, ktorých dôsledkom je tvorba oxidovaných báz DNA.

Existujú aj štúdie dokazujúce pokles aktivity antioxidantných enzýmov, ktorých úlohou je vysporiadať sa s nadmernou prooxidačnou záťažou v bunke. Bindhumol a spol.⁶⁰ merali aktivitu antioxidantných enzýmov (superoxid dismutázy, katalázy, glutatión reduktázy a glutatión peroxidázy) v pečenečných bunkách potkanov po orálnom podávaní 0,2, 2 a 20 µg BPA/kg/denne po dobu 30 dní. Aktivita týchto enzýmov vo všetkých testovaných koncentráciách v mitochondriálnych aj mikrozómových frakciách pečene klesla a naopak úroveň peroxidácie lipidov narástla. Tieto výsledky potvrdzujú hypotézu o prooxidačnom pôsobení BPA po jeho vstupe do bunky.

Podobný trend v poklese aktivity antioxidantných enzýmov zaznamenali aj v štúdií⁶¹, v ktorej sa testoval vplyv BPA (3–50 µM, pokles bol signifikantný od 10 µM) na myšacie makrofágy. Z výsledkov štúdie tiež vyplýva, že v závislosti od koncentrácie a dĺžky pôsobenia, pôsobí BPA na tieto bunky cytotoxicky, genotoxicky, prooxidačne (zvyšovaním množstva ROS), čo sa prejavuje indukciou apoptózy a nekrózy. BPA v koncentrácii 10 µM spôsobilo fosforyláciu proteínu p53 ako odpoveď bunky na vzniknuté poškodenie. Následné uvoľnenie p53 z mitochondrií do cytosólu viedlo k spusteniu kaspázovo-závislej, teda mitochondriálnej apoptotickej dráhy, čo sa prejavilo poklesom množstva antiapoptických proteínov (BCL-2 a BCL-XL), nárastom množstva proapoptických proteínov (BAX, BID, BAD) a poklesom množstva (štiepením) prokaspázy 3 a 9. Získal sa tak dôkaz⁶¹, že BPA zasahuje do funkcie mitochondrií, čo po nahromadení poškodení môže viesť k bunkovej smrti. Spomínané práce potvrdili genotoxické pôsobenie BPA po vstupe do bunky, ktorého dôsledkom môže dochádzať k poškodeniu genetickej informácie buniek.

4. Záver

Plasty, plastové výrobky, ako aj samotný bisfenol A sa najmä v uplynulej dekáde stali predmetom laických i odborných diskusií. Pozornosť venovaná plastom pramení z čoraz častejšie znejúcich ohlasov členov vedeckej komunity, ktorá dôrazne upozorňuje na zdravotné riziká vyplývajúce z vystavovania sa nadmernému množstvu BPA. Druhým mohutne znejúcim hlasom sú ochranári životného prostredia, ktorí varujú pred zamorením planéty plastovými odpadmi a poukazujú najmä na potrebu čistenia svetového oceánu. BPA je právom označované za všadeprítomnú látku, nakoľko od jeho zavedenia do praxe sa stal neodmysliteľnou súčasťou priemyselných odvetví, medzi ktoré patria chemický či textilný priemysel, ako aj zdravotníckych zariadení, ktoré naplno využívajú jednorazové sterilné plasty pri ošetrovaní pacientov. Domácnosti, reštaurácie, bary či populárne „coffee to go“ sú bezpochyby ďalšou vetvou, ktorá je závislá od používania spotrebných plastových materiálov, akými sú zväčša jednorazové fľaše, dózy, príbory, slamky či poháre. Pri ich používaní

zrejme len málokto myslí na ich efektívnu dobu využitia. Niektoré z nich slúžia na účel, pre ktorý boli vyrobené, len niekoľko minút alebo hodín, no v prírode sa pritom rozkladajú dlhé stáročia.

Dnes už mnohé nezávislé vedecké zdroje potvrdili, že BPA pôsobí na bunky a organizmy negatívne. Pôsobenie na bunky prostredníctvom endokrinnnej disrupcie, pri ktorej BPA napodobňuje alebo mení účinky prirodzených hormónov, však nemusí byť jediným mechanizmom jeho účinku. V prípade organizmov, ktoré nemajú vyvinutú endokrinnú sústavu (napr. *S. pombe*⁶²), by mohol pôsobiť napríklad cez oxidáčny stres. Pre potvrdenie tejto alebo inej hypotézy je veľmi dôležité pokračovať v študovaní účinkov BPA a zamerať sa práve na genotoxikologický výskum, ktorý by mohol priniesť zaujímavé odpovede na doteraz vedcami či laikmi nezodpovedané otázky.

Táto práca bola finančne podporená grantmi APVV-18-0125, VEGA 1/0410/18.

LITERATÚRA

1. Yan S., Chen Y., Dong M., Song W., Belcher S. M., Wang H. S.: PLoS One 6, e25455 (2011).
2. Savastano S. a 12 spoluautorov: J. Transl. Med. 13, 169 (2015).
3. Tiwari S. K., Agarwal S., Seth B., Yadav A., Ray R. S., Mishra V. N., Chaturvedi R. K.: Mol. Neurobiol. 52, 1735 (2015).
4. Tewar S., Auinger P., Braun J. M., Lanphear B., Yolton K., Epstein J. N., Ehrlich S., Froehlich T. E.: Environ. Res. 150, 112 (2016).
5. Michałowicz J.: Environ. Toxicol. Pharmacol. 37, 738 (2014).
6. Vandenberg L. N., Hauser R., Marcus M., Olea N., Welshons W. V.: Reprod. Toxicol. 24, 139 (2007).
7. Flint S., Markle T., Thomson S., Wallace E.: J. Environ. Manage. 104, 19 (2012).
8. Prokop Z., Hanková L., Jeřábek K.: React. Funct. Polym. 60, 77 (2004).
9. Dodds E. C., Lawson W.: Nature 137, 996 (1936).
10. Kato M., Miyoshi K., Suzuki T., Tabuchi M., Miyazawa K., Goto S.: Orthod. Waves 73, 41 (2014).
11. Rubin B. S.: J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 127, 27 (2011).
12. Huang Y. Q., Wong C. K. C., Zheng J. S., Bouwman H., Barra R., Wahlström B., Neretin L., Wong M. H.: Environ. Int. 42, 91 (2012).
13. Fleisch A. F., Sheffield P. E., Chinn C., Edelstein B. L., Landrigan P. J.: Pediatrics 126, 760 (2010).
14. Kubwabo C., Kosarac I., Stewart B., Gauthier B. R., Lalonde K., Lalonde P. J.: Food Addit. Contam. 26, 928 (2009).
15. European Commission Directive: The restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles. Official Journal of the European Union, 2002/72/EC (2011).
16. Welshons W., Nagel S., vom Saal F.: Endocrinology 147, 56 (2006).
17. Mansui J., Molcard A., Ourmières Y.: Mar. Pollut. Bull. 91, 249 (2015).
18. Gajowik A., Radzikowska J., Dobrzyńska M. M.: Mutat. Res. 757, 120 (2013).
19. JRC European Commission: <http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC59988/lbna24589enn.pdf>, stiahnuté 20. 5. 2019.
20. Scientific Panel of European Food Safety Authority: 2,2-BIS(4-HYDROXYPHENYL) PROPANE (Bisphenol A), The EFSA Journal, EFSA-Q-2005-100 (2006).
21. Fu P., Kawamura K.: Environ. Pollut. 158, 3138 (2010).
22. Furrhacker M., Scharf S., Weber H.: Chemosphere 41, 751 (2000).
23. Yamamoto T., Yasuhara A., Shiraiishi H., Nakasugi O.: Chemosphere 42, 415 (2001).
24. Turki S., Dhib A., Fertouna-Bellakhal M., Frossard V., Balti N., Kharrat R., Aleya L.: Ecol. Eng. 67, 39 (2014).
25. Hahladakis J. N., Velis C. A., Weber R., Iacovidou E., Purnell P.: J. Hazard Mater. 344, 179 (2018).
26. EFSA: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/sp.efsa.2017.EN-1354>; stiahnuté 8. 2. 2019.
27. Chen D., Kannan K., Tan H., Zheng Z., Feng Y. L., Wu Y., Widelka M.: Environ. Sci. Technol. 50, 5438 (2016).
28. Bujňáková Mlynarčíková A., Scsuková S.: Endocr. Regul. 53, 22 (2019).
29. Li Y., Burns K. A., Arao Y., Luh, C. J., Korach, K. S.: Environ. Health Perspect. 120, 1029 (2012).
30. Ji K., Hong S., Kho Y., Choi, K.: Environ. Sci. Technol. 47, 8793 (2013).
31. Prossnitz E. R., Arterburn J. B., Sklar L. A.: Mol. Cell. Endocrinol. 265, 138 (2007).
32. Thomas P., Dong J.: J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. 102, 175 (2006).
33. Antalíková J., Horovská L., Sečová P., Jankovičová J., Bartóková M., Krejčířová R., Postlerová P.: Endocr. Regul. 53, 19 (2019).
34. Li D.-K., Zhou Z., Miao M., He Y., Wang J., Ferber J., Herrinton L. J., Gao E., Yuan W.: Fertil. Steril. 95, 625 (2011).
35. Nakajima Y., Goldblum R. M., Midoro-Horiuti T.: Environ. Health 11, 1 (2012).
36. Yüksel S., Kabay N., Yüksel M.: J. Hazard Mater. 263, 307 (2013).
37. Bolong N., Ismail A. F., Salim M. R., Rana D., Matsuura T., Tabe-Mohammadi A.: Sep. Purif. Technol. 73, 92 (2010).
38. Wetherill Y. B., Akingbemi B. T., Kanno J., McLachlan J. A., Nadal A., Sonnenschein C., Watson C. S., Zoeller R. T., Belcher S. M.: Reprod. Toxicol. 24, 178 (2007).
39. Bolli A., Galluzzo P., Ascenzi P., Del Pozzo G., Manco I., Vietri M. T., Mita L., Altucci L., Mita D. G., Marino M.: IUBMB Life 60, 843 (2008).
40. Bolli A., Bulzomi P., Galluzzo P., Acconcia

- F., Marino M.: *IUBMB Life* 62, 684 (2010).
41. McKenna N. J., Lanz R. B., O'malley B. W.: *Endocr. Rev.* 20, 321 (1999).
 42. Ascenzi P., Bocedi A., Marino M.: *Mol. Aspects Med.* 27, 299 (2006).
 43. Pike A. C., Brzozowski A. M., Hubbard R. E., Bonn T., Thorsell A. G., Engström O., Ljunggren J., Gustafsson J. A., Carlquist M.: *EMBO J.* 18, 4608 (1999).
 44. Eiler S., Gangloff M., Duclaud S., Moras D., Ruff M.: *Protein Expression Purif.* 22, 165 (2001).
 45. Acconcia F., Pallottini V., Marino M.: *Dose Response* 13, doi: 10.1177/1559325815610582 (2015).
 46. Yu L. a 10 spoluautorov: *Mol. Cell Endocrinol.*, v tlači, <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.01.001> (2019).
 47. Wang Z., Zhang X., Shen P., Loggie B. W., Chang Y., Deuel T. F.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 9063 (2006).
 48. Chaudhri R. A., Olivares-Navarrete R., Cuenca N., Hadadi A., Boyan B. D., Schwartz Z.: *J. Biol. Chem.* 287, 7169 (2012).
 49. Sheng Y. G., Tang Y., Liu Y. X., Yuan Y., Zhao B. Q., Chao X. J., Zhua B. Z.: *Toxicol. App. Pharmacol.* 259, 133 (2012).
 50. Yen P. M., Ando S., Feng X., Liu Y., Maruvada P., Xia X.: *Mol. Cell Endocrinol.* 246, 121 (2006).
 51. Arnaout M. A., Mahalingam B., Xiong J. P.: *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21, 381 (2005).
 52. Mao Z., Xia W., Chang H., Huo W., Li Y., Xu S.: *Toxicol. Lett.* 238, 30 (2015).
 53. Cheong A., Zhang X., Cheung Y. Y., Tang W. Y., Chen J., Ye S. H., Medvedovic M., Leung Y. K., Prins G. S., Ho S. M.: *Epigenetics* 11, 674 (2016).
 54. Deb P., Bhan A., Hussain I., Ansari K. I., Bobzean S. A., Pandita T. K., Perrotti L. I., Mandal S. S.: *Gene* 590, 234 (2016).
 55. Chen F., Capecchi M. R.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96, 541 (1999).
 56. Hui L. a 11 spoluautorov: *Toxicol. Sci.* 164, 527 (2018).
 57. Svoreňová L., Smolková B.: *Onkológia* 12, 410 (2017).
 58. Ďurovcová I., Špačková J., Puškár M., Gálová E., Ševčovičová A.: *Neuroendocrinol. Lett.* 39, 294 (2018).
 59. Puškár M., Ďurovcová I., Ševčovičová A., Oliveira R.: *Študentská vedecká konferencia PriF UK 2017, Zborník recenzovaných príspevkov*, Bratislava, SR, str. 129 (2017).
 60. Bindhumol V., Chitra K. C., Mathur P. P.: *Toxicology* 188, 117 (2003).
 61. Huang F. M., Chang Y. C., Lee S. S., Ho Y. C., Yang M. L., Lin H. W., Kuan Y. H.: *Food Chem. Toxicol.* 122, 215 (2018).
 62. Kim D. M., Heo J., Lee D. W., Tsuji M., Yang M.: *Arch. Pharm. Res.* 41, 830 (2018).

I. Ďurovcová, J. Špačková, L. Holubová, S. Kyzek, E. Gálová, and A. Ševčovičová (*Department of Genetics, Comenius University in Bratislava, Slovakia*): **Does Environmental Pollutant Bisphenol A Endanger Human Health?**

A wide range of substances currently present in the environment may interact with biologically important macromolecules and may thus negatively affect their function. One of them, bisphenol A (BPA), is a basic material used in the production of polycarbonate plastics and epoxy resins, which adds flexibility and durability to the products. Because of its ability to migrate from these products, it represents a potential risk to the environment and to the quality of life of the organisms living there. One of the known mechanisms of BPA's action on organisms acts *via* estrogen receptors, leading to the blocking or mimicking of natural ligands, *i.e.*, sex hormones. Another way BPA can affect cells is to induce oxidative damage to macromolecules including DNA. Therefore, BPA is referred to as a genotoxic agent. Moreover, BPA can also act epigenetically, through altered methylation of some genes, which may affect their expression. This process may represent a risk of inducing or promoting the transformation of healthy cells into tumorous ones. Such disruption of the body's natural environment is therefore undesirable and in contradiction with a healthy and prosperous individual's life.

Keywords: polycarbonate plastics, bisphenol A, endocrine disruption, gene expression, genotoxic effect

Acknowledgements

The work was supported by grants APVV-18-0125 and VEGA 1/0410/18.