

**Aus der Universitätsfrauenklinik
Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Erich - Franz Solomayer**

**Die Konzentration von Bisphenol A (BPA), Malondialdehyd (MDA)
und reaktiver Sauerstoffspezies (ROS)
in Serum & Follikelflüssigkeit sowie deren Einfluss auf ICSI Ergebnisse.**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von
Maximilian Alexander Hütter
Geboren am 19.05.1983 in Ulm

Homburg 2023

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	1
1. ZUSAMMENFASSUNG	3
1. SUMMERY	6
2. EINLEITUNG	10
2.1 VORKOMMEN UND VERBREITUNG VON BISPHENOL A	10
2.2 BISPHENOL A (BPA) STRUKTUR	13
2.3 ENDOKRIN WIRKSAME CHEMIKALIEN (EDCS)	14
2.4 BISPHENOL A (BPA) HORMONE UND IHRE REZEPTOREN	15
2.4.1 Bisphenol A (BPA) Wirkung auf nukleäre und andere Rezeptoren.....	18
2.5 GESUNDHEITLICHE SCHÄDEN	21
2.5.1 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und erhöhtem Risiko für Stoffwechselstörungen .21	
2.5.1.1 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und erhöhtem Risiko für Typ-2-Diabetes	21
2.5.1.2 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und nichtalkoholischer Fettlebererkrankung.....	22
2.5.1.3 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und dem polyzystischen Ovarsyndrom	23
2.5.1.4 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und Endometriose	24
2.5.2 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und dem Immunsystem	25
2.5.3 Zusammenhang zwischen der BPA-Konzentration und Krebserkrankungen	26
2.5.4 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und dem Reproduktionssystem	27
2.5.4.1 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Ovarien.....	28
2.5.4.2 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Follikelentwicklung	30
2.5.4.3 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Eizellentwicklung.....	31

2.5.4.4	BPA Exposition und deren Einfluss auf die Eizellreifung.....	32
2.5.4.5	BPA Exposition und deren Einfluss auf die frühen Stadien der Meiose	33
2.5.4.6	BPA Exposition und deren Einfluss auf die letzten Stadien der Meiose	34
2.5.4.7	BPA Exposition und deren Einfluss auf die Eizellenqualität & Embryoqualität.....	35
2.5.4.8	BPA Exposition und deren Einfluss auf die Blastozystenbildung & Implantation.....	36
2.5.4.9	BPA Exposition und deren Einfluss auf die Gebärmutter	37
2.5.4.10	BPA Exposition und deren Einfluss auf die Rate an Frühaborten.....	38
2.5.4.11	BPA Exposition und deren Einfluss auf Reproduktionsbehandlungen	39
2.5.4.12	BPA Exposition und deren Einfluss auf das fetale und jugendliche Wachstum	39
2.6.	BPA Exposition beim Mann.....	41
2.7	REAKTIVE SAUERSTOFFSPEZIES (ROS).....	42
2.7.1	Intrinsische Produktion von ROS.....	43
2.7.2	extrinsische Quellen von ROS	43
2.7.3	oxidativer Stress	44
2.7.4	ROS und Fertilität und Gravidität	49
2.7.5	Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf die weibliche Fortpflanzung.....	50
2.7.6	Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf die Eizelle.....	51
2.7.7	Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf die Embryonalentwicklung	52
2.7.8	Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf das Ergebnis der assistierten Reproduktionstechnologie	53
2.7.9	Oxidativer Stress und Zigarettenrauch	54
2.8	MALONDIALDYHID UND UNFRUCHTBARKEIT.....	56
2.9	WEITERE EINFLUSSFAKTOREN AUF DIE ERGEBNISSE DER ART	57
2.9.1	Zusammenhang zwischen Alter und Fertilität.....	57
2.9.2	Zusammenhang zwischen Body Mass Index und Fertilität.....	58
2.10	Eigene Fragestellung und Zielsetzung	60

3. MATERIAL UND METHODIK.....	61
3.1 Bisphenol (BPA) Bestimmung.....	62
3.2 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) Bestimmung.....	63
3.3 Malondialdehyde (MDA) Bestimmung.....	64
3.4 Statistische Analyse.....	65
4. ERGEBNISSE.....	66
4.1 Biometrische Daten.....	66
4.1.1 Alter.....	66
4.1.2 Körpermaße.....	66
4.2 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und Gravidität.....	68
4.2.1 BPA und Gravidität.....	68
4.2.2 MDA und Gravidität.....	69
4.2.3 ROS und Gravidität.....	69
4.2.4 ROS und Nikotin.....	70
4.3 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und Infertilitätsursache.....	72
4.3.1 BPA und Infertilitätsursache.....	72
4.3.2 MDA und Sterilitätsursache.....	74
4.3.3 ROS und Infertilitätsursache.....	75
4.4 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und Alter.....	77
4.4.1 BPA und Alter.....	77
4.4.2 MDA und Alter.....	78
4.4.3 ROS und Alter.....	79
4.4.4 Korrelationen mit Alter.....	80
4.5 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und BMI.....	82
4.5.1 BPA und BMI (Body Mass Index).....	82

4.5.2	MDA und BMI (Body Mass Index)	83
4.5.3	ROS und BMI (Body Mass Index).....	84
4.5.4	Korrelationen mit BMI (Body Mass Index).....	85
4.6	Korrelationen zwischen den Einflussgrößen.....	86
4.7	Stimulationsprotokoll und Gravidität	87
4.8	Andere Assoziationen	91
4.8.1	Zusammenhang zwischen Alter und Fertilität.....	91
4.8.2	Zusammenhang zwischen BMI und Fertilität	92
5.	DISKUSSION.....	93
5.1	Zusammenhang zwischen Ätiologie der Unfruchtbarkeit und der cBPA im Serum und in der FF	98
5.2	Zusammenhang zwischen Alter der Patientinnen, cBPA, cMDA, cROS im Serum und in der FF und den ICSI-Ergebnissen	101
5.3	Zusammenhang zwischen Body-Mass-Index (BMI) und cBPA-, cMDA- und cROS im Serum und in der FF und den ICSI-Ergebnissen	103
5.4	Zusammenhang zwischen der cBPA im Serum und in der FF und den ICSI-Ergebnissen.....	105
5.5	Schlussfolgerung	110
6.	LITERATURVERZEICHNIS.....	112
7.	PUBLIKATIONEN / DANKSAGUNG	172
8.	LEBENS LAUF.....	173

Abkürzungsverzeichnis:

AR	Androgenrezeptor
ART	assisted Reproductive Technology (assistierte Reproduktion)
BBS	Parabene
BPA	Bisphenol A
BPS	Bisphenol S
BPF	Bisphenol F
cBPA	BPA Konzentration
COH	kontrollierte ovarielle Hyperstimulation
DES	Diäthyl-Stilboestrol
EDC	endokrine like disruptor (endokrine Disruptoren)
EFSA	EU Behörde für Lebensmittelsicherheit
EM	Endometriose
ER α/β	Östrogenrezeptor α , Östrogenrezeptor β
ERR	Östrogenverwandte Rezeptoren
ET	Eizelltransfer
FF	Follikelflüssigkeit
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
HMG	humanes Menopausengonadotropin
HPG	Hypothalamus – Hypophyse – Gonaden
HPO	Hypothalamus – Hypophyse – Ovar
ICSI	Intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IVF	in – vitro – Fertilisation
LAOEL	lowest observed adverse effect level (niedrigste Dosis mit schädlicher Wirkung)
LBD	Lewy body demenz
LH	Luteotropes Hormon

MDA	Malondialdehyd
mER	membranständiger Östrogenrezeptor
MBP	metabolisiertes BPA (4-metyl-2,4-bis(4-hydroxyphenyl)pent-1-ene)
NOEL	no observed effect level (Dosis ohne Effekt)
OS	oxidativer Stress
PCO	Polyzystische Ovarialsyndrom
RNS	reaktive Stickstoffspezies
ROR	reduzierte ovarielle reserve
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SERM	selektive Östrogenrezeptor Modulatoren
TAC	die Antioxidations Gesamtkapazität

1. Zusammenfassung

Der Weichmacher „Bisphenol A“ (BPA) ist aus der industriellen Kunststoffherstellung nicht mehr wegzudenken. Bisphenol A kommt in zahlreichen Materialien mit Lebensmitteln in Kontakt, da es unter anderem bei der Herstellung von Polycarbonat und Epoxidphenolharzen verwendet wird.

Polycarbonat ist ein weit verbreiteter und einfach zu verarbeitender Kunststoff, der beispielsweise in Babyflaschen, Geschirr, Vorratsbehältern, Lebensmittelverpackungen oder nachfüllbaren Wasserbehältern zu finden ist.

Epoxid-Phenolharze werden unter anderem als Innenbeschichtung für Konserven- und Getränkedosen sowie als Beschichtung für Metalldeckel von Tiegeln und Flaschen verwendet. Sie werden auch als Oberflächenbeschichtung für Trinkwasserspeicher verwendet (Saiyood et al., 2010; Tsai et al., 2009).

Bisphenol A hat sowohl in vitro als auch in vivo eine nachgewiesene östrogenähnliche Wirkung und zählt zu den sogenannten „endokrinen Disruptoren“. Es steht im Verdacht, gesundheits- und erbgutschädigend zu sein (Vandenberg et al., 2007; Flint et al., 2012).

Bereits 2006 schätzten Experten den jährlichen Verbrauch von Bisphenol A in der Europäischen Union auf über 640.000 Tonnen. Bis 2006 galt für die maximale Aufnahme pro Tag ein Grenzwert von 10 µg pro kg Körpergewicht. Aufgrund teilweise noch unveröffentlichter Studien, wonach auch höhere Dosen unbedenklich sein sollen, hat die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit den Grenzwert auf 50 µg/kg pro Tag angehoben. Auch der Migrationswert wurde erhöht (er bestimmt, wie viel Bisphenol A ein Lebensmittel durch den Kontakt mit der Verpackung aufnehmen kann).

Bisphenol (BPA), reaktive Oxygen Species (ROS) und Malondialdehyd (MDA) wurden im Serum und in der Follikelflüssigkeit gemessen. Diese Ergebnisse wurden auf einen Zusammenhang mit dem Alter der Patientinnen, dem Body-Mass-Index, dem Stimulationsprotokoll und dem Ergebnis während und nach ICSI Behandlung (Fertilisationsrate, Teilungsrate der Embryonen und Entstehen einer Schwangerschaft) untersucht.

Ziel dieser Studie war es, einen Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von BPA, MDA- und ROS- sowohl in der Follikelflüssigkeit als auch im Serum mit dem Outcome der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI – Therapie) zu bestimmen.

Darüber hinaus sollte die Beziehung zwischen den BPA-, MDA- und ROS-Spiegeln im Serum und in der Follikelflüssigkeit bezüglich der Ätiologie der Unfruchtbarkeit, dem Alter der Patienten und dem Body-Mass-Index der Schwangeren untersucht werden.

In dieser Studie wurden 86 Paare eingeschlossen, die sich im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung einer Intrazytoplasmatische Spermieninjektion (ICSI) an der Frauenklinik der Universität Sohag in

Ägypten unterzogen. Die Frauen wurden nach Alter in drei Gruppen eingeteilt, wobei die erste Altersgruppe 18–30 Jahre alt war (n = 21), die zweite Altersgruppe 30–35 Jahre alt war (n = 36 Patientinnen) und der dritten Altersgruppe >35 (n=29) Patienten zugeordnet werden konnten.

Bezüglich der Sterilitätsursache wurden die Patientinnen in 4 Gruppen eingeteilt: in die erste Gruppe (G.1; n = 10) Patientinnen mit bekannter Endometriose, in die zweite Gruppe Patientinnen mit bekannter andrologischer Ursache (G.2; n = 17) und in eine dritte Gruppe (G.3; n = 25) die Patientinnen mit pathologischem Menstruationszyklus. Die vierte Gruppe bilden die Patientinnen mit ungeklärter Ursache (idiopathisch) (n = 21).

Darüber hinaus wurden die Patienten basierend auf dem Body-Mass-Index (BMI) in 4 Gruppen eingeteilt: Untergewicht (n=4), Normalgewicht (50), Übergewicht (n=19) und Fettleibigkeit (n=4).

Des Weiteren wurden die Patientinnen gemäß dem Protokoll zur kontrollierten ovariellen Hyperstimulation (COH) in drei Gruppen eingeteilt. Menschliches menopausales Gonadotropin (HMG, Gruppe 1) wurde nur bei 3 Patientinnen verwendet. Rekombinantes FSH wurde bei 34 Patienten verwendet und ein gemischtes Stimulationsprotokoll (n = 47) wurde bei 47 Patientinnen durchgeführt. Nach der Behandlung wurden die Patientinnen in zwei Gruppen schwanger (n=35) und nicht schwanger (n=51) aufgeteilt.

Die Kontrolle der ovariellen Hyperstimulation (COH), Patientennachsorge und Probenentnahme erfolgte folgendermaßen: Zur Stimulation der Eierstöcke wurde ein langes GnRH-Agonisten-Protokoll verwendet. Die Gabe des GnRH - Agonist (Leuprorelin; TAP Pharmaceuticals) erfolgte am 21. Zyklustag des vorherigen Zyklus (21.Tag nach Einsetzen der Menstruation). Die Stimulation mit Gonadotropin wurde mit Gonal-F (Gonal-F, Merck-Serono, Deutschland) ab dem 2. Tag des Menstruationszyklus begonnen. Darauf erhielten die Patientinnen 10.000 IE HCG Humanes Choriongonadotropin (hCG, Pregnel) und 36 Stunden nach Verabreichung von HCG eine transvaginale, ultraschallgesteuerte Follikelpunktion sowie eine Blutentnahme. Das Blut wurde während der Eizellentnahme abgenommen, zentrifugiert und das Serum aus diesem Blut wurde bei -80° C aufbewahrt.

Nach der Entnahme der Oozyten aus der Follikelflüssigkeit wurden etwa 3,0 – 8,0 ml Follikelflüssigkeit in sterile konische Röhrchen (BD Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) überführt und bei 250 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Dann wurde der blutfreie Überstand aliquotiert und bis zur weiteren Auswertung bei -80°C gelagert. Das intrazytoplasmatische Spermieninjektionsverfahren (ICSI) wurde am selben Tag durchgeführt.

Serum- und Follikelflüssigkeitsproben wurden aufgetaut und sofort zur Bestimmung der Lipidperoxidation (LPO) unter Verwendung einer modifizierten Thiobarbitursäure (TBA) gemäß dem Verfahren von Hammadeh et al. (2010) verwendet und die Ergebnisse werden als Malondialdehyd, MDA in nmol pro Liter angegeben.

Die Bisphenol A -Konzentration im Serum und in der Follikelflüssigkeit wird mit einem hochempfindlichen Analyseverfahren bestimmt. Das Ecologiena® Supersensitive BPA ELISA KIT wurde für die Messung der Bisphenol A Spiegel verwendet.

Die Konzentration von ROS wurde durch einen kolorimetrischen Assay zur quantitativen Bestimmung von Peroxiden in EDTA-Plasma, Serum und anderen biologischen Flüssigkeiten unter Verwendung des ELISA-Kits (Oxy Stat; Kat.-Nr. BI-5007 Biomedical Medicine product GmbH & Co KG, Wien, Österreich).

Die mittlere Serum- Bisphenol A -Konzentration betrug $12,9 \pm 2,9 \mu\text{g/ml}$. Bei den Patientinnen, bei denen keine Schwangerschaft herbeigeführt werden konnte (Gravida-negativ), fand sich ein etwas höherer Wert als bei den Patientinnen, die schwanger wurden, jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($13,4 \pm 3,0$ vs. $12,2 \pm 2,9 \mu\text{g/ml}$; $p=0,062$). In der Follikelflüssigkeit (FF) waren die durchschnittlichen Bisphenol A -Konzentrationen nur etwa halb so hoch wie im Serum ($5,7 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$).

Zwischen BPA (Bisphenol A) und der Ursache der Unfruchtbarkeit konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang nachgewiesen werden. Die mittleren Serum- Bisphenol A -Konzentrationen waren bei allen untersuchten Ursachen der Unfruchtbarkeit auf dem gleichen Niveau; die Werte lagen in einem Bereich von 12,0 bis 13,8 $\mu\text{g/ml}$ (Mittelwerte) bzw. 11,4 und 14,1 $\mu\text{g/ml}$ (Median).

Bei den Malondialdehyd -Konzentrationen waren die Befunde qualitativ ähnlich wie bei den Bisphenol A Konzentrationen. Die mittleren Konzentrationen von Malondialdehyd im Serum waren mehr als doppelt so hoch wie in der Follikelflüssigkeit; bei nicht schwangeren Frauen wurden etwas höhere Werte gefunden als bei Patientinnen, die schwanger wurden. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant.

Für Malondialdehyd in der Follikelflüssigkeit ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Unfruchtbarkeitsursache mit dem höchsten und niedrigsten Malondialdehyd -Mittelwert (pathologischer Zyklus vs. andrologische Ursache: $2,7 \pm 1,6$ vs. $1,9 \pm 0,7 \mu\text{g/ml}$; $p=0,036$).

Bei den Untersuchungen zu Reactive Oxygen Species (ROS) zeigte sich, dass die Werte im Serum mehr als doppelt so hoch waren wie in der Follikelflüssigkeit ($596,2 \pm 161,1 \mu\text{M/l}$ im Serum; $232,1 \pm 162,3 \mu\text{M/l}$ im FF). Allerdings war die Konzentration bei Patientinnen, die schwanger wurden und denen, die nicht schwanger wurden, auf dem gleichen Niveau. Außerdem wurden bei den Patientinnen, die schwanger wurden, leicht höhere Reactive Oxygen Species Werte im Serum und in der Follikelflüssigkeit gefunden. Die Unterschiede erreichen jedoch keine statistische Signifikanz.

Das Durchschnittsalter der Patientinnen, die nicht schwanger wurden, war etwas höher als das der Patientinnen, die schwanger wurden ($33,6 \pm 5,0$ vs. $32,8 \pm 3,9$; $p = 0,447$ (t-Test). Außerdem gab es keine signifikante Korrelation zwischen dem Alter und der Befruchtungsrate ($r=0,138$; $p=0,206$; Pearson-Test). Auch der Body – Mass - Index hatte in dieser Studiengruppe keinen erkennbaren Einfluss

auf die Schwangerschaft, der durchschnittliche Body – Mass - Index der Gravida-positiven und Gravida-negativen Frauen war ungefähr gleich ($23,1 \pm 3,5$ vs. $23,8 \pm 4,3$; $p=0,646$ Mann-Whitney-Test), allerdings zeigte sich eine tendenziell schwach negative Korrelation zwischen dem Body – Mass - Index und Befruchtungsrate ($p=0,071$).

Schlussfolgerung: Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Bisphenol A Konzentration im Serum oder in der Follikelflüssigkeit und den anderen untersuchten Parametern gefunden werden. Außerdem gibt es in dieser Untersuchung keine Korrelationen zwischen dem Bisphenol A Spiegel und dem Alter, dem Body-Mass-Index, der Befruchtungsrate, der Embryonalentwicklung, der Implantation und den klinischen Ergebnissen der Kinderwunschbehandlung. Malondialdehyd zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen der Ätiologie der Unfruchtbarkeit.

Die Ergebnisse dieser Studie sollen Ärztinnen und Ärzten auf dem Gebiet der assistierten Reproduktion weitere Informationen im Zusammenhang mit den Risiken täglicher Exposition gegenüber den endokrin wirksamen Substanzen (EDC) und deren Auswirkungen auf die assistierte Reproduktion liefern. Es besteht jedoch weiterhin ein großer Bedarf an epidemiologischen Studien, um die Auswirkungen von Bisphenol A mit klinisch relevanten Ergebnissen aufzuklären.

1. Summery

The plasticizer " Bisphenol A" (BPA) has become an indispensable part of industrial plastic production. Bisphenol A comes into contact with food in numerous materials, as it is used in the production of polycarbonate and epoxy phenolic resins, among others.

Polycarbonate is a widely used and easy-to-process plastic found, for example, in baby bottles, tableware, storage containers, food packaging and refillable water containers.

Epoxy phenolic resins are used, among other things, as internal coatings for food and beverage cans and as coatings for metal lids of jars and bottles. They are also used as surface coatings for drinking water storage tanks (Saiyood et al., 2010; Tsai et al., 2009).

Bisphenol A has been shown to have estrogen-like effects both in vitro and in vivo and is one of the so-called "endocrine disruptors." It is suspected of being harmful to health and genetic material (Vandenberg et al., 2007; Flint et al., 2012).

As early as 2006, experts estimated the annual consumption of bisphenol A in the European Union at over 640,000 metric tons. Until 2006, the maximum daily intake was limited to $10 \mu\text{g}$ per kg body weight. Due to studies, some of which have not yet been published, according to which even higher doses are supposed to be harmless, the European Food Safety Authority raised the limit to $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ per

day. The migration value was also increased (it determines how much bisphenol A a food can absorb through contact with the packaging).

Bisphenol (BPA), reactive oxygen plays (ROS) and malondialdehyde (MDA) were measured in serum and follicular fluid. These results were examined for association with patient age, body mass index, stimulation protocol, and outcome during and after ICSI treatment (fertilization rate, embryo division rate, and pregnancy emergence).

The aim of this study was to determine a relationship between the concentrations of BPA, MDA- and ROS- in both follicular fluid and serum with the outcome of intracytoplasmic sperm injection (ICSI - therapy).

In addition, to investigate the relationship between serum and follicular fluid BPA, MDA, and ROS levels in relation to the etiology of infertility, the age of the patients, and the body mass index of the pregnant women.

This study included 86 couples who underwent intracytoplasmic sperm injection (ICSI) as part of fertility treatment at Sohag University Women's Hospital in Egypt. Women were divided into three groups according to age, the first age group being 18-30 years old (n = 21), the second age group being 30-35 years old (n = 36 patients), and the third age group being >35 (n=29) patients.

Regarding the cause of infertility, patients were divided into 4 groups: in the first group (G.1; n = 10) patients with known endometriosis, in the second group patients with known andrological cause (G.2; n = 17) and in a third group (G.3; n = 25) the patients with pathological menstrual cycle. The fourth group was the patients with unexplained cause (idiopathic) (n = 21).

In addition, patients were divided into 4 groups based on body mass index (BMI): Underweight (n = 4), Normal weight (50), Overweight (n = 19), and Obese (n = 4).

Furthermore, patients were divided into 3 groups according to the controlled ovarian hyperstimulation (COH) protocol. Human menopausal gonadotropin (HMG, group 1) was used only in 3 patients. Recombinant FSH was used in 34 patients, and a mixed stimulation protocol (n = 47) was performed in 47 patients. After treatment, patients were divided into two groups pregnant (n=35) and not pregnant (n=51).

Ovarian hyperstimulation (COH) control, patient follow-up, and sample collection were performed as follows: A long GnRH agonist protocol was used for ovarian stimulation. The GnRH - agonist (leuprorelin; TAP Pharmaceuticals) was administered on the 21st cycle day of the previous cycle (21st day after the onset of menstruation). Gonadotropin stimulation was started with Gonal-F (Gonal-F, Merck-Serono, Germany) from the 2nd day of the menstrual cycle. Following this, patients received 10,000 IU HCG human chorionic gonadotropin (hCG, Pregnel) and 36 hours after HCG administration,

transvaginal ultrasound-guided follicular puncture and blood sampling were performed. Blood was drawn during oocyte collection, centrifuged, and serum from this blood was stored at -80°C .

After oocytes were collected from the follicular fluid, approximately 3.0 - 8.0 ml of follicular fluid was transferred to sterile conical tubes (BD Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) and centrifuged at $250 \times g$ for 10 minutes at room temperature. Then, the blood-free supernatant was aliquoted and stored at -80°C until further analysis. The intracytoplasmic sperm injection (ICSI) procedure was performed on the same day.

Serum and follicular fluid samples were thawed and immediately used for lipid peroxidation (LPO) determination using a modified thiobarbituric acid (TBA) according to the procedure of Hammadeh et al. (2010), and results are reported as malondialdehyde, MDA in nmol per liter.

Bisphenol A concentration in serum and follicular fluid is determined using a highly sensitive analytical method. The Ecologiena® Supersensitive BPA ELISA KIT was used to measure bisphenol A levels.

The concentration of ROS was determined by a colorimetric assay for the quantitative determination of peroxides in EDTA plasma, serum and other biological fluids using the ELISA kit (Oxy Stat; Cat. No. BI-5007 Biomedical Medicine product GmbH & Co KG, Vienna, Austria).

The mean serum bisphenol A concentration was $12.9 \pm 2.9 \mu\text{g/ml}$. In the patients in whom pregnancy could not be induced (gravidia-negative), a slightly higher value was found than in the patients who became pregnant, but no significant difference between the two groups (13.4 ± 3.0 vs. $12.2 \pm 2.9 \mu\text{g/ml}$; $p=0.062$). In follicular fluid (FF), mean bisphenol A concentrations were only about half those in serum ($5.7 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$).

No statistically significant relationship was demonstrated between BPA (bisphenol A) and the cause of infertility. Mean serum bisphenol A concentrations were at the same level for all causes of infertility studied; values ranged from 12.0 to 13.8 $\mu\text{g/ml}$ (mean) and 11.4 and 14.1 $\mu\text{g/ml}$ (median), respectively.

For malondialdehyde concentrations, the findings were qualitatively similar to those for bisphenol A concentrations. Median concentrations of malondialdehyde in serum were more than twice those in follicular fluid; slightly higher levels were found in nonpregnant women than in patients who became pregnant. However, the differences were not significant.

For malondialdehyde in follicular fluid, there was a statistically significant difference between the infertility cause with the highest and lowest malondialdehyde mean (pathological cycle vs. andrological cause: 2.7 ± 1.6 vs. $1.9 \pm 0.7 \mu\text{g/ml}$; $p=0.036$).

Reactive Oxygen Species (ROS) assays showed that levels in serum were more than twice those in follicular fluid ($596.2 \pm 161.1 \mu\text{M/l}$ in serum; $232.1 \pm 162.3 \mu\text{M/l}$ in FF). However, the concentration was at the same level in patients who became pregnant and those who did not. In addition, slightly higher

Reactive Oxygen Species levels were found in serum and follicular fluid in the patients who became pregnant. However, the differences did not reach statistical significance.

The mean age of the patients who did not become pregnant was slightly higher than that of the patients who did (33.6 ± 5.0 vs. 32.8 ± 3.9 ; $p = 0.447$ (t-test). Moreover, there was no significant correlation between age and fertilization rate ($r=0.138$; $p=0.206$; Pearson test). Body - mass - index also had no discernible influence on pregnancy in this study group, the average body - mass - index of gravida-positive and gravida-negative women was approximately equal (23.1 ± 3.5 vs. 23.8 ± 4.3 ; $p=0.646$ Mann-Whitney test), however, there was a tendency of weak negative correlation between body - mass - index and fertilization rate ($p=0.071$).

Conclusion: no significant correlation was found between bisphenol A concentration in serum or follicular fluid and the other parameters studied. Moreover, there are no correlations between bisphenol A level and age, body mass index, fertilization rate, embryonic development, implantation, and clinical outcomes of infertility treatment in this study. Malondialdehyde showed a statistically significant difference between the etiology of infertility.

The results of this study provides physicians in the field of assisted reproduction with further information related to the risks associated with daily exposure to this endocrine disrupting chemical (EDC) and outcomes in assisted reproduction. However, there is still a great need for epidemiological studies to elucidate the effects of bisphenol A with clinically relevant results.

2. Einleitung

2.1 Vorkommen und Verbreitung von Bisphenol A

In der EU schätzten Experten bereits 2006 den jährlichen Verbrauch von BPA auf über 640 000 Tonnen. Bis 2006 galt ein Grenzwert von 10 µg pro kg Körpergewicht für die maximal aufgenommene Menge pro Tag. Aufgrund bisher zum Teil noch nicht veröffentlichter Studien, nach denen auch höhere Dosen unbedenklich sein sollen, hat die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit den Grenzwert auf 50 µg/kg pro Tag angehoben. Auch der Migrationswert wurde angehoben (Er legt fest, wie viel Bisphenol A ein Lebensmittel durch den Kontakt mit der Verpackung aufnehmen darf). Gemäß der Bedarfsgegenständeverordnung (BedGgstV) lag er 2006 bei 0,6 mg pro kg Lebensmittel. Bereits im Jahr 2015 werden jährlich geschätzt bereits etwa 6 Millionen Tonnen BPA produziert (Konieczna et al., 2015).

Die EU Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) hat nach Auswertung neuer Studien im Januar 2015 den Grenzwert für die als unbedenklich geltende tägliche Aufnahme von Bisphenol A durch den Menschen von bisher 50 Mikrogramm auf 4 Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht und Tag gesenkt. Diesen Wert sieht die EFSA jedoch als vorläufigen Wert an, da noch Ergebnisse von Tierstudien ausstehen. Nach der Senkung des Grenzwertes sieht die EFSA keine Gefährdung der menschlichen Gesundheit durch die Aufnahme von Bisphenol A durch die Nahrung. Die französische Lebensmittelbehörde kommt zu einer abweichenden Bewertung. In Frankreich ist seit Januar 2015 die Verwendung in Lebensmittelverpackungen verboten. Eine Kennzeichnungspflicht für Bisphenol A haltige Lebensmittelverpackungen gibt es bisher nicht (deutsches Umweltbundesamt, 03/2015).

Für die Beurteilung dieses Potentials im Rahmen der Risikobewertung für den Menschen spielt die Toxikokinetik eine zentrale Rolle. Nach oraler Aufnahme (durch Nahrungsmittel) wird Bisphenol A schnell zu einem Glucoronid verstoffwechselt, welches keine endokrine Aktivität mehr besitzt, und durch die Niere ausgeschieden (HWZ < 6h). Daraus und durch die hohe Plasmaproteinbindung sind die Konzentrationen von freiem BPA beim Menschen sehr gering. Es entstand die Diskussion über den so genannten „low dose effect“.

Beim Menschen zeigten mehrere epidemiologische Studien, dass sich in den letzten Jahrzehnten die Samenqualität des Mannes vermindert hat. Weiterhin wurden Veränderungen an Fortpflanzungsorganen von wildlebenden Tieren durch diese Art der Umweltverschmutzung beobachtet.

Die vorgeburtliche Geschlechtsentwicklung ist sehr empfindlich gegenüber gering gradigen hormonellen Dysregulationen. Darüber hinaus ist jede Fehlentwicklung nicht mehr "reparabel". Daher bergen "endocrine disruptors" während dieser Entwicklung ein hohes Gefahrenpotential.

Aus diesem Grund sind zahlreiche nationale und internationale Forschungsaktivitäten auf diesem Gebiet entstanden. Das Risiko, das von einer solchen Substanz ausgeht, ist nicht immer gleich. Es hängt von der Schadstoffmenge ab, der ein Organismus ausgesetzt wird, ferner von dem Zeitraum und der Toxizität der Substanz.

Studien zur Risikoabschätzung berücksichtigen daher immer die Toxizität, die Dosisantwort und die Exposition der Chemikalie. Bei toxikologischen Untersuchungen werden die Studien so geplant, dass eine Dosis ohne Effekt ("no observed effect level"; NOEL) definiert wird. Im Allgemeinen wird jede darunterliegende Dosis als Niedrigdosis ("low dose") betrachtet und nicht untersucht. "NOEL" bildet die Grundlage für jene Substanzmenge, in der eine tägliche Aufnahme nur mit einem sehr geringen Risiko verbunden sei und somit akzeptiert werden könne. Es ist indessen sehr umstritten, ob dieser Grundsatz (Niedrigdosis = kein Effekt) für "endocrine disruptors" gelten kann, weil aus vielen physiologischen Prozessen bekannt ist, dass die Dosisabhängigkeit nicht linear verläuft. Auch ein niedriger Dosisbereich kann Effekte hervorrufen, die entweder nicht im hohen Dosisbereich auftreten oder das Gegenteil der Effekte im hohen Dosisbereich zeigen. Wird diese Annahme bestätigt, müssten die für die Fortpflanzungstoxikologie behördlich vorgeschriebenen Untersuchungen grundlegend geändert werden, um das Risiko im Niedrigdosisbereich zu erfassen.

Zur Diskussion steht die Annahme, dass aufgrund von Vorhandensein bestimmter BPA Konzentrationen direkt oder indirekt Rückschlüsse auf die Fortpflanzungsfähigkeit zu führen sind. Zu diesem Zweck soll die BPA Konzentration aus dem Seminalplasma und aus der Follikelflüssigkeit ausgewählter Probanden mittels eines hoch sensitiven Analyseverfahren ermittelt werden. Das dafür vorgesehene Kit wurde nach Rücksprache mit der Firma Biosense Laboratories noch nicht für derartige Arbeiten verwendet, soll allerdings für unsere Messungen uneingeschränkt geeignet sein. Wir erwarten daher, sehr niedrige Konzentrationen messen zu können und darüber hinaus einen Beitrag zu dem Thema „low dose effect“ leisten zu können.

Die Unfruchtbarkeit ist eines der größten Gesundheitsprobleme, die das menschliche soziokulturelle Leben beeinflusst. Sie betrifft 10-15 % der Paare weltweit, etwa 50 % der Unfruchtbarkeitsfälle werden auf männliche Faktoren zurückgeführt (Cui, 2010; Hamada et al., 2011).

Zu den Faktoren, die die männliche Unfruchtbarkeit verursachen, gehört die Exposition gegenüber Umweltgiften (Akingbemi et al. 2004).

Bisphenol A (2,2-Bis(4-hydroxyphenyl)propan) gehört weltweit zu den bekanntesten toxischen Umweltschadstoffen.

Die ursprüngliche Synthese von BPA wird zwei Wissenschaftlern zugesprochen: Dianin, der das Molekül 1891 als erster synthetisierte, und Zincke, der die Synthese des Moleküls 1905 publizierte (Huang et al., 2011). So wurde BPA 1891 entdeckt und wird, spätestens seit der Zwischenkriegszeit, in Massenproduktion hergestellt (Dodds and Lawson, 1936).

Seitdem wird BPA in großem Umfang produziert und als gängiger Bestandteil bei der Herstellung von Kunststoffen verwendet. Kunststoffe sind umfassend in den heutigen Lebensstil integriert und haben einen festen Bestandteil in fast allen Produktbereichen (Olea et al., 1996; Völkel et al., 2011; Hammer et al., 2012; Li et al., 2015). Der vielfältige Einsatz und die häufige Verwendung von Kunststoffen hat dazu beigetragen, dass sich BPA in der Umwelt angereichert hat.

BPA ist eine in großen Mengen hergestellte Chemikalie, die bei der Herstellung von Polycarbonatkunststoffen und Epoxidharzen verwendet wird. Es ist in vielen häufig verwendeten Produkten enthalten, darunter Lebensmittel- und Getränkebehälter, Babyflaschen und zahnmedizinische Komposite sowie in Lebensmittelkonserven (Saiyood et al., 2010; Tsai et al., 2009). Die Tatsache, dass bei der Mehrheit der Menschen BPA nachgewiesen werden kann, belegt unsere weltweit zunehmende Exposition gegenüber dieser Chemikalie (Calafat et al., 2008).

BPA gilt als östrogenähnlicher endokriner Disruptor (EDC) oder als Xenoöstrogen. Es konnte gezeigt werden, dass BPA ähnlich wie 17- β -Östradiol wirkt (Vandenberg et al., 2007; Flint et al., 2012).

Bisphenol-A (BPA) ist, rein mengenmäßig, eine der am meisten produzierten Chemikalien weltweit. Aktuell werden jährlich geschätzt über 6 Millionen Tonnen produziert und davon wiederum ca. 100 Tonnen in die Atmosphäre freigesetzt. Die weltweite Jahresproduktion von BPA betrug 2009 noch etwa 2,2 Millionen Tonnen, wobei die USA ein Fünftel der Gesamtmenge produzierten (Konieczna et al., 2015).

Zahlreiche Studien haben ergeben, dass BPA aus Babyflaschen aus Polycarbonat (siehe Ref. 9 Vandenberg et al., 2007) und wiederverwendbaren Wasserflaschen (Le et al., 2008) austritt bzw. in die Nahrung übertritt.

Calafat et al. fanden heraus, dass 93 % der über 6-jährigen Amerikaner nachweisbare BPA-Konzentrationen in ihrem Urin hatten (Calafat et al., 2008).

Arnold et al. fanden heraus, dass die maximale quantifizierte BPA-Konzentration in europäischem Trinkwasser 0,014 $\mu\text{g/l}$ beträgt. Sie stellten auch fest, dass die Expositionswerte weit unter den angegebenen toxischen Schwellenwerten für BPA lagen (Arnold et al., 2013).

Im Januar 2011 wurde in der EU ein Verbot für die Verwendung von BPA bei der Herstellung von Säuglingsflaschen aus Polycarbonat erlassen [Europäische Kommission, Änderungsrichtlinie 2011], und im Dezember 2012 wurde auch in Frankreich ein Gesetz verabschiedet, das die Herstellung, die Einfuhr, die Ausfuhr und das Inverkehrbringen von Lebensmittelverpackungen, die BPA enthalten, verbietet [Französisches Gesetz Nr. 2012]. Dieses Verbot ist seit Januar 2015 in Kraft getreten.

Die Hauptquelle für die Exposition des Menschen gegenüber BPA sind Lebensmittel und Getränke, die mit BPA-haltigen Materialien in Berührung kommen (Vandenberg et al., 2007).

Einige Untersuchungen deuten darauf hin, dass auch Hautkontakt zur Exposition des Menschen gegenüber BPA beitragen kann. Darüber hinaus zeigen mehrere andere Studien, dass BPA aus verzehrten Produkten freigesetzt wird, was zu seinem Nachweis in Lebensmitteln, Trinkwasser, Abwasser, Luft und Staub führt (Vandenberg et al., 2007; Zalko et al., 2011; Delfosse et al., 2012).

Der in vivo niedrigste beobachtete schädliche Effekt (LOAEL) für BPA wird mit 50 mg/kg/Tag angegeben und auf eine in vitro-Dosis von 0,05 mg/mL bei Mäusen extrapoliert (Peretz et al., 2012).

Frühere Experimente, bei denen Mäuse BPA ausgesetzt wurden, ergaben, dass Dosen von mehr als 10 µg/kg einen Entwicklungsstillstand induzieren und den oxidativen Stress signifikant erhöhen, was typischerweise mit Apoptose einhergeht (Nourian et al., 2017).

In einem Kommentar zu Übersichten über die Wirkung von BPA bei den damals anerkannten toxischen Schwellenwerten stellten vom Saal et al. fest, dass die Mehrzahl der von ihnen überprüften Studien Auswirkungen von BPA bei Konzentrationen deutlich unterhalb der angegebenen Sicherheitsschwelle zeigten (vom Saal and Hughes, 2005).

Darüber hinaus stellten sie fest, dass es einen erkennbaren Einfluss der Finanzierungsquelle auf die Ergebnisse dieser Studien gab. Mehr als 90 % der von der Regierung finanzierten Studien zeigten, dass BPA bereits bei einer niedrigen Dosis Auswirkungen hat, während die von der Industrie finanzierten Studien keine Auswirkungen zeigten (vom Saal and Hughes, 2005).

2.2 Bisphenol A (BPA) Struktur

Bisphenol A (BPA) ist eine chemische Verbindung aus der Gruppe der Diphenylmethan-Derivate und eines der Bisphenole. Es wird synthetisch hergestellt und ist Bestandteil vieler Produkte des täglichen Gebrauchs wie Plastikflaschen, Plastikspielzeug, Thermopapier, der Auskleidung von Konservendosen, Bodenbeschichtungen aus Epoxidharz (Frederick et al., 2014; Gore et al., 2015).

BPA enthält zwei funktionelle Phenolgruppen (Abb. 1) und wird durch die Kombination von zwei Äquivalenten Phenol mit einem Äquivalent Aceton hergestellt. BPA wurde erstmals 1891 von A. P. Dianin synthetisiert und später in den 1930er Jahren bei der Suche nach synthetischen Östrogenen untersucht. Damals wurde es auf seine östrogenen Eigenschaften getestet, aber für die pharmazeutische Verwendung aufgegeben, als festgestellt wurde, dass Diethylstilbestrol viel wirksamer ist (Dodds and Lawson, 1936).

BPA passt mit seinen zwei Benzolringen und zwei (4,4') – OH – Substituenten in die Östrogenrezeptor-Bindungstasche. In biochemischen Versuchen wurde die Kinetik der BPA-Bindung an Östrogenrezeptoren (ER) untersucht und festgestellt, dass BPA sowohl ER α als auch ER β bindet, wobei die Affinität zu ER β etwa 10-mal höher ist (Gould et al., 1998; Kuiper et al., 1998).

Bisphenol A (CAS 80-05-7)

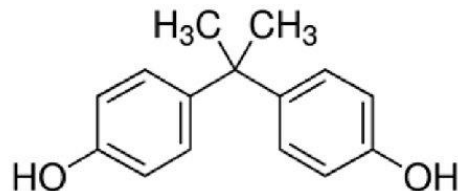


Abb.1 Chemische Struktur von Bisphenol A (BPA)

2.3 Endokrin wirksame Chemikalien (EDCs)

Endokrine Disruptoren greifen in die Hormonwirkung ein, indem sie Hormone imitieren, unangemessene Reaktionen zu unpassenden Zeiten fördern oder die Hormonwirkung blockieren, was zu Veränderungen im Hormon- und Homöostatsystem führt und die Fähigkeit des Körpers beeinträchtigt, mit der Umwelt zu kommunizieren und auf sie zu reagieren (Gore et al., 2015).

Im Jahr 1995 veranstaltete das EPA einen Workshop zur Bewertung des Forschungsbedarfs für die Risikobewertung der Auswirkungen von endokrinen Disruptoren auf wildlebende Tiere und menschliche Populationen. Damals wurde ein endokriner Disruptor definiert als "ein exogener Wirkstoff, der die Synthese, Sekretion, den Transport, die Bindung, die Wirkung oder die Ausscheidung natürlicher Hormone im Körper stört, die für die Aufrechterhaltung der Homöostase, die Fortpflanzung, die Entwicklung und/oder das Verhalten verantwortlich sind" (Kavlock et al., 1996).

Der Begriff endokrine Disruptoren (EDCs) wurde jedoch erstmals 1991 im Wingspread Conference Center in Wisconsin geprägt. Die Arbeit von Theo Colborn et al. aus dem Jahr 1993 war eine der frühesten Arbeiten über dieses Phänomen (Colborn et al., 2011).

Viele Wissenschaftler schrieben nach einem Treffen eine Konsenserklärung, dass eine große Anzahl von vom Menschen hergestellten Chemikalien, die in die Umwelt freigesetzt wurden, sowie einige natürliche Chemikalien das Potenzial haben, das endokrine System von Tieren, einschließlich des Menschen, zu stören" (Colborn and Clement, 1992).

Als endokrine Disruptoren (EDCs) werden exogene Substanzen bezeichnet, die das endokrine System stören und zu einer Reihe von Entwicklungs-, Fortpflanzungs-, Immun-, neurologischen oder Stoffwechselkrankheiten bei Menschen und Tieren führen können (Diamanti-Kandarakis, 2009; Bonefeld-Jorgensen 2007). Die als Bisphenol A (BPA) bekannte endokrin wirksame Chemikalie ist eine östrogene Verbindung, die in der Umwelt allgegenwärtig ist.

Bei vielen endokrin wirksamen Chemikalien (EDCs) handelt es sich um vom Menschen hergestellte Chemikalien, die durch die industrielle Produktion in die Umwelt gelangen, z. B. Weichmacher, Organozinn, Pestizide oder Alkylphenole (le Maire et al., 2010).

In den letzten Jahren wurden viele Anstrengungen unternommen, um den detaillierten Einfluss von EDCs auf Säugetiersysteme zu untersuchen. Es gibt zahlreiche Belege für die schädlichen Auswirkungen auf die Schilddrüsenfunktion, die Gehirnfunktion, Fettleibigkeit und den Stoffwechsel sowie die Insulin- und Glukosehomöostase (Tabb et al., 2006).

Die Exposition gegenüber EDCs kann sich auch negativ auf die reproduktive Gesundheit von Männern auswirken (Meeker., 2010).

Miao et al. (2015) führten eine Querschnittsstudie unter Arbeiterinnen aus BPA-exponierten (n=106) und nicht-exponierten (n=250) Fabriken in China durch. Sie beobachteten einen signifikanten positiven Zusammenhang zwischen einer erhöhten BPA-Konzentration im Urin und höheren Prolaktin- und Progesteronspiegeln.

2.4 Bisphenol A (BPA) Hormone und ihre Rezeptoren

Hormone regulieren ihre eigenen Rezeptoren und modulieren so ihre Empfindlichkeit (z. B. Auf- und Abregulierung der Rezeptoren); niedrige Dosen erhöhen typischerweise die Anzahl der Rezeptoren, während hohe Dosen hemmend wirken (Taylor et al., 2011; Patisaul, 2017).

Natürliche Chemikalien wie Phytoöstrogene, die in Lebensmitteln vorkommen, sind ebenfalls bekannte endokrine Disruptoren. Diese Chemikalien dienen verschiedenen Zwecken und sind in der Umwelt allgegenwärtig (Gore et al., 2015).

Die weltweite Exposition des Menschen gegenüber BPA konnte gezeigt werden (Calafat et al., 2008; Becker et al., 2009) und deutet darauf hin, dass die große Mehrheit der Menschen dieser Chemikalie mehrmals täglich aus verschiedenen Quellen ausgesetzt ist (Stahlhut et al., 2009; Xiao et al., 2011).

Die Veränderung des Gleichgewichts und der Verfügbarkeit von Steroidhormonen in den Zielzellen könnte zu einigen der berichteten BPA-Wirkungen beitragen (Bulzomi et al., 2011). Es gibt zahlreiche

Belege für die schädlichen Auswirkungen auf die Schilddrüsenfunktion, die Gehirnfunktion, Fettleibigkeit und den Stoffwechsel sowie die Insulin- und Glukosehomöostase (Tabb and Blumberg, 2006).

Es gibt darüber hinaus zahlreiche Hinweise darauf, dass BPA mit vielen nuklearen Hormonrezeptoren interagieren kann, wie zum Beispiel dem menschlichen Östrogenrezeptor (Li et al., 2010; le Maire et al., 2010, Delfosse et al., 2012), dem menschlichen Pregnan-X-Rezeptor oder Steroid- und Xenobiotikarezeptor (Sohoni et al., 1998), dem Androgenrezeptor (Takayanagi et al., 2006; Sohoni et al., 1998), Humaner Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor (Riu et al., 2011) und Schilddrüsenhormonrezeptor (Moriyama et al., 2002; Zoeller et al., 2005).

BPA mit seinen zwei Benzolringen und zwei (4,4') – OH – Substituenten passt in die Bindungstaschen sowohl des Östrogenrezeptors (ER) α als auch des ER β (16).

Daher verändert BPA die Reaktion von Geweben auf Östrogene (durch Veränderung der Expression von ERs) sowie auf andere Hormone wie Progesteron, Androgene und Oxytocin (Patisaul et al., 2020; Taylor et al., 2011). BPA moduliert auch die Aktivität von Aromatase, dem Enzym, das Androgene in Östrogene umwandelt, was zu einer doppelten Wirkung von BPA und zusätzlichem intrazellulärem Östradiol führt (z. B. erhöht BPA die Aromataseaktivität und das intrazelluläre Östradiol im Mesenchym der fötalen Prostata (Wang et al., 2019) (Abb.2).

Obwohl der am meisten untersuchte Wirkungsmechanismus von BPA seine östrogene Aktivität ist (Welshons et al., 2003; Welshons et al., 2006), ist seine endokrine Wirkungsweise viel komplexer (Vandenberg et al., 2009). BPA ist nicht nur ein nuklearer ER-Agonist, sondern auch ein Agonist der membranständigen ERs (mERs) und des G-Protein-gekoppelten Rezeptors 30 (GPR30/GPER) und kann über diese Rezeptoren bei sehr niedrigen Konzentrationen schnelle nichtgenomische Signalkaskaden aktivieren (Watson et al., 2005; Villar-Pazos et al., 2017).

Die Metabolisierung von BPA zu MBP vergrößert den Abstand zwischen den beiden Phenolringen, was zu Kontakten zwischen MBP und ER α und ER β führt, die denen von Estradiol-17 β im Vergleich zu BPA ähnlicher sind (Baker SE, 2012).

MBP bindet auch an Androgenrezeptoren und Progesteronrezeptoren und stört deren Aktivität (Rehan et al., 2015).

Die Exposition gegenüber BPA (10 und 100 mg/mL) scheint auch den Steroidogeneseprozess zu stören und verringerte signifikant die Expression des steroidogenen akuten regulatorischen Proteins (StAR) und der Cytochrom-P450-Seitenkettenspaltung (Cyp11a1), die als ratenlimitierende Faktoren für die Steroidogenese gelten und die notwendigen Vorstufen für die Synthese anderer Steroide liefern (Pike et al., 1999; Peretz et al., 2013), was zur Folge hatte, dass die Spiegel von Androstendion, Testosteron und Östradiol sanken. Diese Veränderungen sind mit einer Zunahme der Follikelatresie verbunden und

werden bei menschlichen Erkrankungen beobachtet, die zu Unfruchtbarkeit, polyzystischem Ovarsyndrom und Endometriose führen (Santangeli et al., 2017).

Darüber hinaus wurde festgestellt, dass BPA an beide nuklearen Östrogenrezeptoren (ER) bindet. BPA kann sowohl die Wirkung von Östrogen nachahmen als auch Östrogen antagonisieren, was darauf hindeutet, dass es ein selektiver Östrogenrezeptor-Modulator (SERM) oder partieller Agonist des ER ist (Rochester., 2013, Wisniewski et al., 2015; Zhou et al., 2016).

Kürzlich wurde eine Studie über die reproduktiven und hormonbezogenen Ergebnisse bei Frauen über 18 Jahren veröffentlicht, die in der dritten Generation DES ausgesetzt waren. Diese Studie zeigt, dass Frauen der dritten Generation ein erhöhtes Risiko für unregelmäßige Menstruation, Amenorrhoe, Frühgeburten und Eileiterschwangerschaften hatten. Diese Veränderungen waren bei Frauen, deren Mutter von DES-assoziierten vaginalen Epithelveränderungen betroffen war, deutlicher ausgeprägt (Titus et al., 2019).

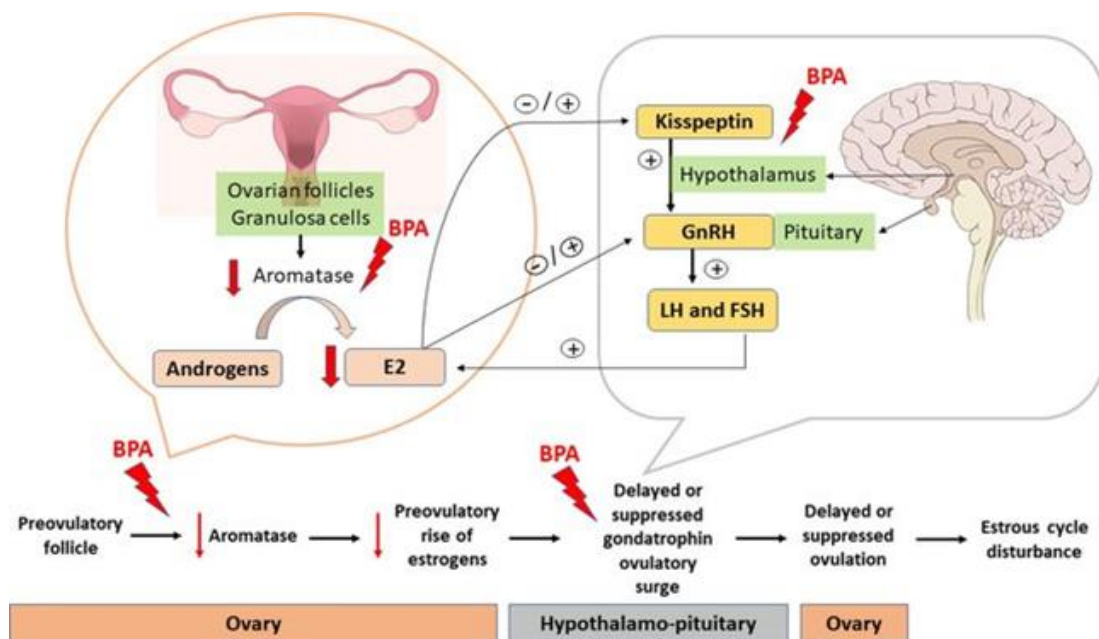


Abb.2 Hypothese einer sequenziellen Kaskade von BPA-Ereignissen, die zur Entwicklung eines veränderten Östrogenzyklus führen, angepasst an AOP-Daten von Vigué et al. (2018). BPA (Bisphenol A); E2 (17β-Estradiol); GnRH (Gonadotropin-Releasing-Hormon); LH (luteinisierendes Hormon); FSH (follikelstimulierendes Hormon).

2.4.1 Bisphenol A (BPA) Wirkung auf nukleäre und andere Rezeptoren

Östrogenrezeptoren

Das BPA-Molekül weist strukturelle Merkmale auf, die ihm die Fähigkeit verleihen, an die beiden Östrogenrezeptor-Subtypen (ER α und ER β) zu binden, obwohl BPA eine 1000- bis 2000-fach geringere Affinität zu den ERs aufweist als 17 β -Östradiol (E2), das aktivste Östrogen (Bolli et al., 2008; Bolli et al., 2010).

BPA Exposition ahmt E2 in Gegenwart von ER α nach und wirkt als proliferatives Agens, während BPA in Gegenwart von ER β als vollständiger Antagonist des E2-ER β -Komplexes wirkt (Bolliet al., 2010; Marino et al., 2012).

Viele Studien haben berichtet, dass BPA die Östrogenrezeptoren α und β (ER α und ER β) nachahmt und mit ihnen konkurriert, um sich an sie zu binden und die östrogenabhängige Genexpression zu modulieren (Paris et al. 2002; Lee et al., 2012).

Pupo et al. wiesen nach, dass BPA den G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptor-1-Signalweg (GPER, ERK 1/2, EGFR) in Krebszellen aktiviert, indem es die Expression von mit dem G-Protein-Rezeptor gekoppelten Zielgenen induziert (Pupo et al., 2012).

Der bekannteste Wirkmechanismus von BPA ist seine Fähigkeit, sowohl auf den Östrogenrezeptor (ER) alpha, als auch auf den ER beta zu wirken und dabei genomische und nichtgenomische Wirkungen auszulösen (Balakrishnan et al., 2010; Blumberg et al., 2011).

Die Strukturen von BPA und Diethylstilbestrol (DES) sind einander ähnlicher als dem körpereigenen Östradiol, was darauf hindeutet, dass Chemikalien mit variablen Strukturen in der Lage sind, an den ER zu binden.

Androgenrezeptor

Die Exposition gegenüber BPA wurde in der Bevölkerung einer Reihe von Ländern mit einem geringeren Anteil männlicher Geburten in Verbindung gebracht und erhöhte das Risiko von Kryptorchismus, Hypospadie und verminderter Samenqualität bei Männern (Kortenkamp et al., 2012), was auf eine mögliche Beeinträchtigung der männlichen Fortpflanzungsfunktion durch BPA hindeutet.

Der Androgenrezeptor (AR), der in allen männlichen und weiblichen Organen exprimiert wird, hat eine ähnliche zelluläre Lokalisierung (Pedram et al., 2007) und ähnliche Wirkmechanismen wie die ERs.

Es liegen jedoch nur sehr wenige Daten über die Auswirkungen von BPA auf die Transkriptionsaktivität des AR vor, während die Fähigkeit dieser Verbindungen, die androgenabhängigen extranukleären Signale zu stören, noch unzureichend untersucht wurde.

So scheint die Androgensignalgebung weniger anfällig für BPA-Störungen zu sein, aber BPA könnte die Therapie bei Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakrebs über mutierte ARs beeinträchtigen (Sohoni and Sumpter, 1998; Bulzomi and Marino, 2011).

Endokrin wirksame Chemikalien (EDCs) wie die Phthalate wirken als antiandrogene Verbindungen, verschlechtern das männliche Fortpflanzungssystem und sind mit der Entstehung von oxidativem Stress verbunden (Jeng et al., 2014).

Östrogenabhängige Rezeptoren

Obwohl Östrogen-verwandte Rezeptoren (ERR) eine Unterfamilie von verwaisten nuklearen Rezeptoren sind, die eng mit ERalpha und ERbeta verwandt sind und nicht an Östrogene binden, weisen sie eine bedeutende und bemerkenswerte Homologie mit ERs auf, insbesondere in der DNA-Bindungsdomäne und der LBD. Da ERR jedoch an Östrogen-Response-Elemente binden können, besteht möglicherweise eine Überschneidung zwischen ER und ERR-Aktion (Ascenzi et al., 2006).

Die ERR besitzen eine konstitutive Transkriptionsaktivität, von der bekannt ist, dass sie durch einige Chemikalien (z. B. Desametason [DES], 4-Hydroxytamoxifen [4-OHT]) unterdrückt wird. BPA bindet stark an den menschlichen ERR mit einer halbmaximalen Hemmkonzentration (IC₅₀) von 13,1 nmol/L, wobei die konstitutive Aktivität des ERRg auch in Gegenwart von 4-OHT erhalten bleibt (Takayanagi et al., 2006).

Da ERRs und ERa das Potenzial haben, bei der Regulierung gemeinsamer Zielgene miteinander zu interferieren oder zusammenzuarbeiten, und ERRg im Gehirn von Säugetieren während der Entwicklung sowie im Gehirn, in der Lunge und in anderen Geweben von Erwachsenen in hohem Maße exprimiert wird, könnte es möglich sein, dass die Wirkungen von niedrig dosiertem BPA durch diesen Kernrezeptor vermittelt werden.

Schilddrüsenhormon-Rezeptor

BPA ist ein Antagonist des Schilddrüsenhormonrezeptors und stört die normale Bindung von 3,5,3'-Triiodthyronin (Moriyama et al., 2002; Zoeller et al., 2005)

Die extrakernigen Wirkungen des Schilddrüsenhormonrezeptors (THR) sind zumindest teilweise von Integrin beta3 abhängig, dass den MAPK/c-Src-Weg aktiviert, der für die Phosphorylierung und Aktivierung des nukleären THR verantwortlich ist (Lin et al., 2012).

Darüber hinaus interferieren BPA-Konzentrationen mit dem Signalweg und unterdrücken die durch den Schilddrüsenhormonrezeptor (THR) vermittelte Transkription (Sheng et al., 2012).

Pregnan-X-Rezeptor

Der Pregnan-X-Rezeptor wird durch viele Arzneimittel und Umweltschadstoffe aktiviert, darunter BPA und mehrere Analoga, die als potente Agonisten für den menschlichen PXR (hPXR) wirken (Sui et al., 2012).

Obwohl die BPA-Konzentrationen, die den hPXR aktivieren, relativ hoch sind, könnten Kombinationen von BPA und anderen endokrinen Disruptoren den hPXR in vivo additiv oder synergistisch aktivieren.

Der konstitutive Androstan-Rezeptor (CAR) und der Pregnan-X-Rezeptor (PXR) fungieren als Sensoren für toxische Nebenprodukte aus endogenen Stoffwechselprodukten und exogenen Chemikalien, um deren Ausscheidung zu verbessern.

Peroxisom-Proliferator-aktivierte Rezeptoren

Eine der größten Bedenken, die gegen BPA vorgebracht werden, ist die vermutete Auswirkung einer frühen BPA-Exposition auf das Auftreten von Fettleibigkeit und metabolischen Syndromen (Rubin and Soto, 2009)

Die pränatale Exposition könnte eine entscheidende Rolle spielen, da diese BPA-Derivate im menschlichen Nabelschnurblut (200 pg/g Frischgewicht) und in der Muttermilch (0,1-37,4 ng/g Lipidgewicht) vorkommen (Cariou et al., 2008).

Interessanterweise konnte BPA zwar nicht direkt an den Peroxisom-Proliferator-aktivierten Rezeptor (PPAR γ) binden und dessen Gentranskription aktivieren, aber niedrig bromierte BPA-Analoga, die auch in der Umwelt freigesetzt werden, binden an den Rezeptor und zeigen eine konzentrationsabhängige Transaktivierungseffizienz (Riu et al., 2011).

2.5 Gesundheitliche Schäden

2.5.1 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und erhöhtem Risiko für Stoffwechselstörungen

Die erhöhte BPA Konzentrationen war bei Ostasiaten mittleren Alters und älter mit einem erhöhten Nüchternblutzuckerspiegel assoziiert, allerdings nur bei Personen mit genetischem Diabetesrisiko (Bi et al., 2016). Eine chinesische Längsschnittstudie ergab, dass die BPA-Belastung mit erhöhten Werten des Nüchternblutzucker und einer geringeren Betazellfunktion bei Frauen, nicht aber bei Männern verbunden war (Wang et al., 2019). Darüber hinaus wurde in einer Längsschnittstudie an chinesischen Männern ein erhöhtes Risiko für das metabolische Syndrom bei erhöhten BPA-Werten festgestellt, allerdings hauptsächlich bei Rauchern (Ma et al., 2019).

Zudem konnte gezeigt werden, dass eine hohe BPA-Belastung mit höheren LDL-Cholesterinwerten und niedrigeren HDL-Cholesterinwerten bei Erwachsenen mittleren Alters und älter assoziiert war (Wang et al., 2019). Auch wurden hohe BPA-Werte mit niedrigeren HDL-Cholesterinwerten über einen Zeitraum von 5 Jahren in Verbindung gebracht (Li et al., 2020).

Erhöhte BPA-Werte konnten bei Erwachsenen über 40 Jahren (in einem Zeitraum von vier Jahren) mit einem höheren Risiko für die Entwicklung von Fettleibigkeit in Verbindung gebracht werden. Hier insbesondere in der Gruppe der 40- bis 60jährigen (sonst gesunden) Frauen (normalgewichtig, Nichtraucher, Nichttrinker und ohne vorbestehendem Bluthochdruck) (Hao et al., 2018).

Schließlich zeigt eine Vielzahl von Studien negative Auswirkungen von erhöhten BPA-Werten auf Stoffwechselerkrankungen (Heindel et al., 2017), einschließlich Auswirkungen auf die Leber (Strakovsky et al., 2015), das Fettgewebe, die Bauchspeicheldrüse und die Glukoseintoleranz (Heindel et al., 2017; Alonso-Magdalena et al., 2011). BPA führt auch zu Hormonveränderungen, die die Funktion der Fettzellen und das Körpergewicht regulieren (Angle et al., 2013).

2.5.1.1 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und erhöhtem Risiko für Typ-2-Diabetes

Humanstudien konnten bereits einen Zusammenhang zwischen BPA-Konzentrationen im Blut und einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes, das Metabolische Syndrom sowie einen höheren Body-Mass-Index und Fettleibigkeit zeigen. Sun et al. (2014) untersuchten prospektiv die Urinkonzentrationen von BPA und Phthalat-Metaboliten im Zusammenhang mit dem Risiko für Typ-2-Diabetes. Sie haben

BPA Konzentrationen und acht wichtige Phthalat-Metaboliten bei 971 Typ-2-Diabetes-Fall-Kontroll-Paaren aus der Nurses' Health Study1 (NHS I) (Durchschnittsalter 65,6 Jahre) und der NHS II (Durchschnittsalter 45,6 Jahre) gemessen und verglichen. Sie zeigten, dass in der Nurses Health Study 1, die Frauen (Durchschnittsalter 66 Jahre) einschließt, die BPA-Spiegel nicht mit Typ-2-Diabetes assoziiert waren. In der Nurses Health Study 2, die Frauen mittleren Alters (Durchschnittsalter 46) einschließt, wurde der BPA-Gehalt jedoch mit Typ-2-Diabetes in Verbindung gebracht (nach Anpassung an den Body-Mass-Index (BMI)). Somit könnte die BPA-Belastung bei Frauen mittleren Alters, nicht aber bei älteren Frauen, mit dem Risiko für Typ-2-Diabetes verbunden sein. Die Autoren stellten die Hypothese auf, dass etwaige Zusammenhänge zwischen BPA und Diabetes bei Frauen vor der Menopause stärker sein würden als bei Frauen nach der Menopause. Denn experimentelle Daten legen nahe, dass BPA die Funktion der insulinproduzierenden Betazellen der Bauchspeicheldrüse durch die Aktivierung von Östrogenrezeptoren beeinträchtigt (Sun et al., 2014). Eine andere Studie aus China fand jedoch keinen Zusammenhang zwischen BPA-Werten und Typ-2-Diabetes bei einer Nachbeobachtungszeit von 5 Jahren (Shu et al. 2018). Eine Längsschnittstudie aus Frankreich ergab eine annähernde Verdoppelung des Risikos für Typ-2-Diabetes durch BPA- und BPS-Expositionswerte (Rancière et al. 2019).

2.5.1.2 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und nichtalkoholischer Fettlebererkrankung

Dallio et al. (2018) entwarfen eine In-vitro- und eine klinische Studie, um die Rolle von Bisphenol A bei der Entstehung der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) zu untersuchen. Darüber hinaus sollten in menschlichen HepG2-Zellen die Auswirkungen der Exposition gegenüber verschiedenen Konzentrationen von Bisphenol A auf die Induktion von oxidativem Stress und die Zellproliferation untersucht werden. Sie nahmen 60 Patienten mit einer histologisch gesicherten Diagnose von NAFLD mit oder ohne Typ-2-Diabetes mellitus und 60 gesunde Probanden auf. In vitro wurde die Proliferation von Bisphenol A exponierten HepG2-Zellen in zwei verschiedenen Konzentrationen (0,025 und 0,05 μM) sowohl bei hohen (H-HepG2) als auch bei niedrigen (L-HepG2) Glukosekonzentrationen für 48 Stunden untersucht. Die Lipoperoxidation wurde mit dem Test auf reaktive Substanzen der Thiobarbitursäure bewertet. Sie fanden heraus, dass die Bisphenol-A-Konzentrationen bei den Probanden sowohl im Urin als auch im Plasma signifikant höher waren ($P < 0,0001$) als in der Kontrollgruppe, und dass sie bei 30 Patienten mit nicht-alkoholischer Steatohepatitis höher waren als bei 30 Probanden mit einfacher Steatose ($P < 0,05$), unabhängig vom Vorliegen eines Typ-2-Diabetes mellitus. Nach einer einmonatigen Bisphenol-A-freien Diät zeigten die NAFLD-Patienten eine signifikante Verringerung der zirkulierenden Bisphenol-A-Konzentrationen ($P < 0,05$),

jedoch keine signifikante Verringerung der Urinwerte. H-HepG2-Zellen, die mit Bisphenol A (0,05 µM) behandelt wurden, proliferierten im Vergleich zu den Kontrollen nach 48 Stunden stärker ($P < 0,0001$). Bisphenol A erhöhte die Thiobarbitursäure Werte nach 48 Stunden im Vergleich zu den Kontrollen. Das Ergebnis dieser Studie zeigt eine mögliche Rolle von Bisphenol A als Umweltfaktor, der an der Förderung von NAFLD beteiligt ist, insbesondere bei Typ-2-Diabetes mellitus Patienten (Dallio et al., 2018).

2.5.1.3 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und dem polyzystischen Ovarsyndrom

PCOS ist die häufigste Endokrinopathie bei Frauen im reproduktiven Alter. Es ist durch Hyperandrogenismus, Insulinresistenz und chronische Anovulation gekennzeichnet. Auch eine Exposition mit BPA als endokriner Disruptor wurde mit der Pathogenese von PCOS in Verbindung gebracht (Tarantino et al., 2013). Mehrere Studien haben über höhere BPA-Werte bei prämenopausalen Frauen mit PCOS im Vergleich zu Frauen mit regelmäßigem Eisprung berichtet (Tarantino et al., 2013; Kandaraki et al., 2011). Darüber hinaus führte eine BPA-Behandlung bei Ratten sowohl während der Trächtigkeit als auch während der Neugeborenenperiode zur Entwicklung eines PCOS-ähnlichen Syndroms im Erwachsenenalter (Aghajanova, 2009; Fernández et al., 2010).

Es wird angenommen, dass dem Zusammenhang zwischen PCOS und BPA ein bidirektionaler Mechanismus zugrunde liegt, an dem sowohl eine durch BPA erhöhte Insulinresistenz, ein erhöhter Index freier Androgene, als auch eine chronische, niedriggradige Entzündung beteiligt sind (Tarantino et al., 2013).

Tatsächlich fanden Kandaraki et al. (2011) bei Frauen mit PCOS einen signifikanten positiven Zusammenhang zwischen Testosteron und Androstendion und dem BPA-Spiegel. Der Anstieg des Androgenspiegels kann hier durch verschiedene Mechanismen erklärt werden.

Die Exposition von ovariellen Theca-Interstitialzellen der Ratte gegenüber BPA *in vitro* führt zu einer erhöhten Testosteronsynthese (Kandaraki et al., 2011). Die in BPA-Experimenten beobachtete Erhöhung der GnRH/LH-Pulsfrequenz könnte an diesem Ereignis beteiligt sein (Fernandez et al., 2009). Darüber hinaus verändert BPA den Androgenstoffwechsel in der Leber und wirkt als starker Ligand des Sexualhormon-bindenden Globulins (SHBG); daher kann es Androgene von SHBG verdrängen, was zu einem Anstieg der freien Androgene im Serum führt (Kandaraki et al., 2011). Einige Studien haben jedoch die Hypothese aufgestellt, dass ein erhöhter BPA-Spiegel eine Folge und nicht die Ursache von PCOS ist, da Frauen mit PCOS höhere zirkulierende Testosteronspiegel aufweisen als gesunde Frauen, und erhöhte Androgenkonzentrationen die BPA-Clearance verringern (Fernández et al., 2010).

2.5.1.4 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und Endometriose

Endometriose ist eine gynäkologische Erkrankung, die durch Endometriumdrüsen und Stroma gekennzeichnet ist, die außerhalb der Gebärmutterhöhle wachsen. Diese ektopische Gebärmutter Schleimhaut reagiert auf hormonelle Signale; daher ist eine fetale Östrogenexposition positiv mit Endometriose im Erwachsenenalter verbunden (Missmer et al., 2004; Signorile et al., 2010).

Aufgrund seiner Fähigkeit, mit ERs zu interagieren, könnte BPA am Auftreten östrogenabhängiger Pathologien beteiligt sein.

Eindeutige epidemiologische Daten stellen einen Zusammenhang zwischen der In-Utero-Exposition gegenüber dem starken Östrogen-ähnlichen Medikament DES und dem Auftreten von Endometriose im späteren Erwachsenenalter her (Missmer et al., 2004); über die Exposition gegenüber BPA ist jedoch viel weniger bekannt. In einer Pilotstudie untersuchten Cobellis et al. (2009) den möglichen Zusammenhang zwischen den Serumspiegeln von BPA und dem eng verwandten, wenn auch viel weniger untersuchten Bisphenol B (BPB) und dem Auftreten von Endometriose.

Die Autoren fanden weder BPA noch BPB in den Seren von gesunden Kontrollfrauen (n = 11). Im Gegensatz dazu fanden die Forscher mindestens eines der Bisphenole in 63,8 % der Seren der 58 Patientinnen mit Endometriose; 51,7 % und 27,6 % dieser Proben wiesen nachweisbare BPA- bzw. BPB-Werte auf, während 15,5 % der Patientinnen nachweisbare Werte beider Bisphenole aufwiesen.

In einer Studie mit 465 Frauen, die sich einer Laparoskopie/Laparotomie unterzogen hatten, und 131 Patientinnen mit Endometriose, die mittels Beckenresonanztomographie diagnostiziert worden war, fanden Buck Louise et al. (2013) einen positiven Zusammenhang zwischen Phthalaten im Urin und Endometriose, während BPA im Urin nicht mit Endometriose in Verbindung gebracht wurde. Darüber hinaus analysierten Itoh et al. (2007) die Gesamt-BPA-Konzentration im Urin von 166 unfruchtbaren Patientinnen und konnten keinen Zusammenhang mit Endometriose feststellen. Es ist nicht zu übersehen, dass verschiedene Biomarker für die Exposition unterschiedliche Bedeutungen haben können.

Daher gibt die BPA-Konzentration im Urin wie bei Buck Louis et al. (2013) und Itoh et al. (2007) festgestellt, Aufschluss über die Umweltexposition insgesamt, während BPA im Serum (Cobellis et al., 2009) ein direkterer Indikator für die interne Exposition von Zielgeweben sein kann, wie in der PREVIENI-Studie an unfruchtbaren italienischen Frauen (Caserta et al., 2013; Bloom et al., 2011) beschrieben.

Eine Studie an Mäusen deutet auf einen möglichen Mechanismus hin, durch den die Exposition gegenüber BPA zu einer Prädisposition für Endometriose führen kann. Signorile et al. (2010) injizierten trächtigen Mäusen BPA (100 und 1000 µg/kg/Tag) vom ersten Tag der Trächtigkeit bis sieben Tage nach der Geburt und fanden endometrioseähnliche Strukturen im Fettgewebe, das den Genitaltrakt einer Reihe ihrer geschlechtsreifen (3 Monate alten) Nachkommen umgibt. In der Kontrollgruppe wurde nur ein Fall beobachtet.

Die Autoren schlugen daher vor, dass die Endometriose durch Veränderungen in der korrekten axialen Entwicklung des Mullerschen Systems während der Embryogenese durch Veränderungen in der genetisch-epigenetischen Programmierung verursacht werden könnte. Wie bereits erwähnt, sind Studien, bei denen parenterale Verabreichungswege verwendet werden, für die Risikobewertung beim Menschen möglicherweise nur begrenzt oder gar nicht relevant. Andererseits können die Querschnittsstudien am Menschen im Gegensatz zu den experimentellen Studien keinen Aufschluss über eine mögliche Wirkung auf die Programmierung geben.

In Anbetracht der widersprüchlichen Ergebnisse muss die Hypothese eines Zusammenhangs zwischen BPA und Endometriose durch robuste und solide konzipierte Human-Biomonitoring-Studien weiter erforscht werden.

2.5.2 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und dem Immunsystem

Darüber hinaus haben zahlreiche Studien ergeben, dass endokrin wirksame Chemikalien (EDCs) Immunzellen bei hormonbedingten Krankheiten wie rheumatoider Arthritis, Atherosklerose und Diabetes beeinflussen können (Birnbau and Fenton, 2003; Casals-Casas and Desvergne, 2011).

Lee et al. (2020) untersuchten die Wirkung von BPA auf die Entzündungsmechanismen von Makrophagen. Sie untersuchten insbesondere, ob BPA die MAPK/NF-κB-Signalwege und die NLRP3-Inflammasom-Aktivität beeinflusst. Sie zeigten, dass BPA die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen wie Tumornekrosefaktor (TNF)-α, Interleukin (IL)-6, IL-1β und IL-18 signifikant herunterreguliert. Die durch BPA induzierte verringerte Produktion von IL-1β und IL-18 war mit einer Inaktivierung der Aktivität des NLRP3-Inflammasoms verbunden. Insgesamt deuten diese Daten darauf hin, dass BPA als Störfaktor der Entzündungsaktivität wirken könnte, indem es die NF-κB/MAPK-Signalwege und die NLRP3-Inflammasom-Aktivierung reguliert (Lee et al., 2020).

2.5.3 Zusammenhang zwischen der BPA-Konzentration und Krebserkrankungen

In den Studien über DES wurden Moleküle mit endokrinen Wirkungen identifiziert, die im Hinblick auf die Onkogenese von besonderem Interesse sind. BPA wurde als eine solche endokrin wirkende Chemikalie bewertet (EDC) (Rocheffort et al., 2017).

Es wird berichtet, dass die BPA-Exposition das biologische Verhalten von Krebszellen verändert, insbesondere Proliferation, Invasion, Wachstum, Überleben, Migration und Apoptose (Khan et al., 2021).

MAPK, PI3K/AKT, NFκB und JNK sowie die Ca²⁺-Homöostase sind die am meisten untersuchten Signalwege im Zusammenhang mit BPA und Krebs (Qu et al. 2018).

Acevedo et al. (2013) bewerteten das bösartige Potenzial von BPA bei Ratten und zeigten, dass BPA bei Dosen, die mit den in epidemiologischen Studien ermittelten Mengen im menschlichen Urin und Blut vergleichbar sind, als Brustdrüsenkarzinogen wirkt.

Außerdem wurde gezeigt, dass BPA die Proliferation menschlicher epithelialer Eierstockkrebszellen (OVCAR-3) fördert, die Anfälligkeit von Endometriumzellen für die Wirkung von Östradiol erhöht und die 17-β-Östradiol-induzierte genomische Aktivität von ERβ in DLD-1-Darmzellen hemmt (Cobellis et al., 2009; Bolli et al., 2010; Ptak et al., 2012).

Die endokrinen Wirkungen von BPA sind bereits seit den 1930er Jahren bekannt. Im Vergleich zu anderen damals untersuchten Substanzen war die Affinität von BPA zum Östrogenrezeptor relativ gering. Anders als beispielsweise Diethylstilbestrol (DES) wurde BPA nie als synthetisches Östrogen kommerziell genutzt (Dodds and Lawson, 1936).

Seit den 1980er Jahren gibt es jedoch Bedenken hinsichtlich der endokrinen Wirkungen von BPA, vor allem seit dem Verbot von DES im Jahr 1979, nachdem es mit der Verursachung von Gebärmuttertumoren bei jungen Frauen in Verbindung gebracht wurde, die in utero DES ausgesetzt waren (Hutt., 1982).

In-vitro- und In-vivo-Studien haben gezeigt, dass die BPA-Exposition einen prokarzinogenen Einfluss auf hormonabhängige und hormonunabhängige Krebserkrankungen hat (Gao et al. 2015; Seachrist et al. 2016).

Verschiedene Autoren wiesen nach, dass BPA das Risiko sowohl für hormonabhängige als auch für hormonunabhängige Krebsarten deutlich erhöhen kann, indem es epigenetische Veränderungen hervorruft, wie z. B. eine veränderte Methylierung des Promotors von Tumorsuppressoren oder Onkogenen, eine globale Hypomethylierung und Histonmodifikationen, und indem es die Expression von nichtcodierenden RNAs wie miRNA, lncRNA und snoRNA moduliert (Ho et al. 2015; Şenyıldız

und Özden 2015; Senyildiz et al. 2017; Prins et al. 2018; Cheong et al. 2018; Fatma Karaman et al. 2019).

Sprague et al. haben einen positiven Zusammenhang zwischen BPA-Serumspiegeln und mammographischer Brustdichte bei Frauen nach der Menopause festgestellt. Sie fanden heraus, dass die mammografische Brustdichte von 12 % auf 17 % anstieg, wenn die BPA-Serumspiegel von nicht nachweisbar auf 0,55 ng/ml anstiegen (Sprague et al., 2013). Dies hat erhebliche Auswirkungen auf das Krebsrisiko, da die mammografische Brustdichte ein unabhängiger Prädiktor für das Brustkrebsrisiko ist (Boyd et al., 2010). Es wird angenommen, dass eine Zunahme der Dichte um 5 %, wie sie im Zusammenhang mit der BPA-Exposition berichtet wurde, das Brustkrebsrisiko um 5-10 % erhöht (Boyd et al., 1995).

Dieses Risiko wurde jedoch im Fall von DES besser charakterisiert, bei dem die In-Utero Exposition zu einem höheren Risiko für mehrere neoplastische Erkrankungen, einschließlich Brustkrebs, geführt hat (Biro und Deardorff 2013; Teitelbaum et al., 2015).

Binder et al. fanden einen positiven Zusammenhang zwischen den EDC-Konzentrationen im Urin und der mammographischen Brustdichte bei weiblichen Jugendlichen, wobei ein Unterschied in der mammographischen Brustdichte von 7 % zwischen Patienten mit den höchsten und niedrigsten EDC-Konzentrationen im Urin festgestellt wurde. Die Autoren spekulierten, dass diese Effekte das Brustkrebsrisiko im späteren Leben beeinflussen könnten (Binder et al., 2018).

Jüngere Studien gehen davon aus, dass BPA auch andere als die mit Hormonrezeptoren zusammenhängenden onkogenen Signalwege induzieren kann, darunter solche, die mit der Stammzellendifferenzierung (Lillo et al., 2017), der DNA-Reparatur (Langie et al., 2015) und der Immunmodulation (Casey et al., 2015) zusammenhängen.

2.5.4 Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration und dem Reproduktionssystem

1997 berichteten Endokrinologen in der ersten In-vivo-Studie über Bisphenol A (BPA), dass die Verfütterung von BPA an trächtige Mäuse bei einer niedrigen Dosis von 2 µg/kg/Tag schädliche Auswirkungen auf die Fortpflanzung der männlichen Nachkommen hat. Seitdem haben Tausende von Studien über schädliche Auswirkungen bei Tieren berichtet, denen niedrige BPA-Dosen verabreicht wurden.

Der Literatur zufolge kann BPA im menschlichen Serum, Fruchtwasser, Urin, Nabelschnurblut und Plazentagewebe gemessen und ausgewaschen werden (Peretz et al., 2010).

Darüber hinaus kann ein beeinträchtigt Follikelwachstum die Hormonproduktion schwächen, da die Granulosazellen die einzigen Zellen in den Antralfollikeln sind, die die Androgene in der Theca in Östrogene aromatisieren (Lenie et al., 2008).

2.5.4.1 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Ovarien

Weibliche Tiere haben eine reproduktive Lebensspanne, die zum Zeitpunkt der Geburt festgelegt wird (Pepling, 2012). BPA hat je nach Expositionszeitpunkt unterschiedliche Auswirkungen auf die Eierstöcke.

Mehrere experimentelle Studien haben die Auswirkungen von BPA auf die Eierstöcke untersucht (Peretz et al., 2012). Epidemiologische Studien in Fruchtbarkeitskliniken haben gezeigt, dass Frauen mit höheren BPA-Werten im Urin auch eine geringere Anzahl von Antralfollikeln aufwiesen, was auf eine geringere Eierstockreserve und folglich eine geringere Empfängnisfähigkeit hinweist (Souter et al., 2013).

Außerdem beeinflusst die mütterliche Exposition die frühesten Stadien der Oogenese im sich entwickelnden fötalen Eierstock. Rodriguez et al. (2010) berichteten, dass eine neonatale Exposition gegenüber BPA (20 mg/kg KG/Tag) durch subkutane Injektion den Pool der primordialen Follikel bei Ratten nach 8 Tagen reduziert. Rivera et al. (2011) berichteten, dass eine neonatale Exposition gegenüber BPA (50 mg/kg KG/Tag) durch subkutane Injektion den primordialen Follikel-Pool verringert und die Anzahl der Multi-Eizellen und atretischen Follikel bei Lämmern am postnatalen Tag (PND) 30 erhöht.

Darüber hinaus stört eine in utero Exposition gegenüber oralem BPA (0,5, 20 und 50 mg/kg Körpergewicht/Tag) den Abbau von Keimzellnestern bei weiblichen Nachkommen von Mäusen am vierten Lebenstag (Wang et al., 2017).

Insbesondere wurden in mehreren Studien zur In-Utero-Exposition von Mäusen und Rhesusaffen Störungen während der Prophase der Meiose und eine Zunahme der multiplen Oozytenfollikel (MOFs) festgestellt (Hunt et al., 2012; Susiarjo et al., 2007).

Eine interessante Studie von Susiarjo et al. (2007) an trächtigen Mäusen, die BPA ausgesetzt waren, zeigte synaptische Anomalien wie "unvollständige Synapsen" (teilweises oder vollständiges Versagen der Synapsen eines einzelnen Chromosomenpaares), End-zu-End-Verbindungen zwischen nicht homologen Chromosomen und ein erhöhtes Risiko für Aneuploidie.

Bei Nagetieren sind die Eizellen bei der Geburt in Zysten gebündelt, und einzelne Primordialfollikel werden erst dann nachweisbar, wenn die Zysten 3-5 Tage nach der Geburt aufbrechen. Der Zerfall der Zysten wird in der Regel durch den Abfall des Östrogenspiegels nach der Geburt eingeleitet. BPA, das als synthetisches Östrogen wirkt, kann diesem Vorgang entgegenwirken (Zhang et al., 2012; Rivera et al., 2011).

Darüber hinaus hat die intrauterine Exposition gegenüber BPA analoge Auswirkungen auf die frühe Oogenese und die Follikelbildung bei Mäusen (Zhang et al., 2012; Susiarjo et al., 2007) sowie bei Rhesusaffen (Hunt et al., 2012). Die Follikelaktivierung wurde von Chao et al. (2011) bestätigt, die feststellten, dass die Eierstöcke von Mäusen nach BPA-Exposition eine signifikante Abnahme der Primordialfollikel, aber eine Zunahme der Primär-, Sekundär- und Antralfollikel aufwiesen.

Diese Ergebnisse wurden auch in einer Studie mit Lämmern erzielt, einer Spezies, bei der die Follikelentwicklung ähnlich verläuft wie beim Menschen (Rivera et al., 2011).

Diese Ergebnisse experimenteller Studien geben Anlass zur Sorge über die Auswirkungen einer BPA-Exposition auf die menschliche Fortpflanzungsprogrammierung, da diese Säugetiere als gültiges Modell für die menschliche Fortpflanzungsphysiologie gelten (Hunt et al., 2012).

In einer kürzlich von Lee et al. durchgeführten Studie an erwachsenen weiblichen Ratten (8 Wochen alt), die 90 Tage lang oral mit 1 µg/kg Körpergewicht (KG) oder 100 µg/kg KG exponiert wurden, war die Caspase-3-Aktivierung durch die BPA-Exposition signifikant erhöht, was zu einer Verstärkung der Follikelatresie und der Regression des Gelbkörpers führte (Lee et al., 2013).

Darüber hinaus beobachteten Lee et al., dass die 17β-Östradiol-Synthese durch eine Herunterregulierung der Aromatase verringert wurde. Das steroidogene akute regulatorische Protein (StAR) und das Aromatase-Cytochrom P450 (P450arom) scheinen von BPA angegriffen zu werden (Lee et al., 2013).

In-vitro-Studien haben gezeigt, dass BPA die Hormonproduktion der Eierstöcke beeinträchtigen kann. Insbesondere korreliert ein erhöhter BPA-Gehalt mit einem Rückgang des Spitzen-Östradiolspiegels und einer geringeren Anzahl von Eizellen (Ehrlich et al., 2012; Bloom et al., 2011).

Eine Studie an Antralfollikeln, die aus 32 Tage alten Mäusen isoliert wurden, zeigte, dass BPA die Produktion von Progesteron, Dehydroepiandrosteron, Androstendion, Estron, Testosteron und Östradiol signifikant verringert (Peretz et al., 2012).

Ein ähnlicher Wirkmechanismus könnte dem Zusammenhang zwischen weiblicher Unfruchtbarkeit und höheren BPA-Konzentrationen zugrunde liegen, der in den Ergebnissen der italienischen Biomonitoring-Studie PREVIENI durchgängig berichtet wurde (Caserta et al., 2013). Interessanterweise waren in dieser Studie die höheren Serum-BPA-Spiegel bei unfruchtbaren Frauen auch mit einer Hochregulierung einiger Kernrezeptoren (ERα, ERβ, Androgenrezeptor und Pregnan-X-Rezeptor) in den mononukleären Serumzellen korreliert (Caserta et al., 2013).

In beiden Studien führte die Inkubation der Zellen mit 0,1, 1 und 10 μM BPA zu einem signifikanten Rückgang der Progesteronproduktion.

In-vitro-Studien wurden auch an menschlichen Eizellen durchgeführt (Briño-Enríquez et al., 2012; Machtinger et al., 2013). Gene, die an der DNA-Doppelstrangbildung, -signalisierung und -reparatur beteiligt sind, wurden in fötalen Oozyten, die BPA ausgesetzt waren, hochreguliert (Briño-Enríquez et al., 2012). Machtinger et al. (2013) behandelten menschliche Eizellen von Patientinnen, die sich IVF-Zyklen unterzogen, mit 0, 20 und 200 ng/ml BPA. In Übereinstimmung mit Tierstudien beobachteten sie eine negative Auswirkung auf die Zellzyklusprogression, die Spindelarchitektur und die Chromosomenorganisation.

Die in Tierversuchen und an menschlichen Eizellen in vitro beobachteten Veränderungen der Eizellen könnten das schlechte Ansprechen der Eierstöcke auf IVF-Behandlungen und die wiederholten Fehlgeburten erklären, die bei Frauen mit höheren BPA-Serumkonzentrationen beobachtet wurden (Rochester et al., 2013).

Die daraus resultierenden meiotischen Defekte erhöhen die Wahrscheinlichkeit, dass Embryonen, die von den exponierten Frauen im Erwachsenenalter produziert werden, chromosomal abnormal sind.

Da der Wirkmechanismus von BPA lebensphasenabhängig ist, kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine BPA-Exposition kurz vor oder während der Geschlechtsreife hauptsächlich eine hemmende Wirkung auf die Steroidbiosynthese hat. Diese hemmende Wirkung wurde sogar in isolierten Granulosazellen von Schweinen (Grasselli et al., 2010) und in menschlichen Lutealzellen beobachtet, die aus den Gelbkörpern von Frauen gewonnen wurden, die wegen nicht endokriner gynäkologischer Erkrankungen operiert wurden (Romani et al., 2013).

2.5.4.2 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Follikelentwicklung

Eine normale Follikulogenese ist ein Schlüsselmerkmal für die Entwicklung einer kompetenten Eizelle. Jede Beeinträchtigung des Follikelwachstums kann zu Anomalien in der Steroidogenese führen, die wiederum zu einer Follikelatresie führen (Peretz et al., 2012). Eine In-vitro-Studie an Nagetieren untersuchte die Auswirkungen einer BPA-Exposition auf das Wachstum der Antralfollikel und die Follikelatresie (Peretz et al., 2011). Die Forscher maßen das Follikelwachstum nach der Kultur von Antralfollikeln in einem Medium, das BPA (1-100 g/ml) ($4,4\text{-}440\text{ M}$) oder eine Vehikelkontrolle (Dimethylsulfoxid) enthielt, und bewerteten das Follikelwachstum alle 24 Stunden über 96-120 Stunden.

Die Exposition gegenüber einer BPA-Konzentration von 100 g/ml (440 M) verringerte das Follikelwachstum signifikant und erhöhte die Atresierate im Vergleich zu den Kontrollen. Die Forscher vermuteten, dass BPA den Zellzyklus unabhängig vom genomischen Östrogenweg beeinträchtigt (Peretz et al., 2012). Die Auswirkungen der BPA-Exposition auf das Follikelwachstum wurden auch bei Primaten untersucht (Hunt et al., 2012). Die Forscher fanden signifikant mehr Sekundär- und Antralfollikel, die zwei bis drei Eizellen, vier bis fünf Eizellen oder mehr als fünf Eizellen enthielten, bei weiblichen Rhesusaffen, die mit einer einmaligen täglichen Dosis BPA (400 g/kg Körpergewicht) behandelt wurden, im Vergleich zu Kontrollen ($P < 0,001$). Der Anteil der Follikel mit mehr als fünf Eizellen war bei den Affen, die einer kontinuierlichen BPA-Exposition ausgesetzt waren, signifikant erhöht und führte zu Serumspiegeln von 2,2-3,3 ng/ml (d.h. 10- 15 nM) im Vergleich zu den Kontrollen.

Die chronische BPA-Exposition führte auch zur Bildung von Follikeln, die Oozyten unterschiedlicher Größe enthielten, und die Markregion der Eierstöcke von Tieren, die BPA ausgesetzt waren, wies viele kleine, nicht geschlossene Oozyten in Sekundär- und Antralfollikeln auf. Ähnlich wie bei den Nagetier-Studien wiesen Primatenföten mit intrauteriner BPA-Exposition in den letzten Stadien der Schwangerschaft im Vergleich zu den Kontrollen mehr Follikel mit mehreren Oozyten auf.

2.5.4.3 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Eizellentwicklung

Oozyten entstehen während der Entwicklung des Fötus aus den primordialen Keimzellen. Nach der DNA-Replikation treten die Eizellen in die Prophase der ersten meiotischen Teilung (Prophase I) ein, in der die Chromosomen kondensieren und rekombiniert werden. Später zerstreuen sich die Chromosomen und die Eizellen werden von einer einzigen Schicht von Granulosazellen (Primordialfollikel) umgeben (Martínez et al., 2008). Die Eizellen bleiben bis zur Pubertät in der Prophase I, dem Keimblasenstadium, verhaftet. Während der weiblichen Fortpflanzungsjahre treten die Eizellen und Follikel in die Wachstumsphase ein und nehmen die Meiose als Reaktion auf den LH-Schub allmählich wieder auf (Rodrigues et al., 2010). Das erste Anzeichen für die Wiederaufnahme der Meiose ist der Zerfall der Keimbläschen, gefolgt von Metaphase I, Anaphase I, Telophase I und Metaphase II. Mehrere Stadien der Eizellenentwicklung könnten besonders empfindlich auf EDC reagieren, darunter der Beginn der Meiose im fötalen Eierstock, die Follikelbildung in der Perinatalperiode sowie das Eizellenwachstum und die Wiederaufnahme der Meiose im Erwachsenenalter (Lawson et al., 2011).

BPA wurde bereits auch in der Follikelflüssigkeit und in den Granulosa Zellen des Follikels nachgewiesen (Ikezuki et al., 2002).

Tatsächlich haben zahlreiche Studien gezeigt, dass BPA die Follikelreifung und die Meiose in den Eizellen verändert, die Steroidogenese stört und die Qualität der Eizellen verringert (Peretz et al., 2014; Peretz et al., 2011).

Experimentelle Studien haben gezeigt, dass BPA auch die Eizelle und die Granulosazellen beeinträchtigt, die für das Überleben und die Ernährung der Eizelle wichtig sind (Huo et al., 2015a). Bei Nagetieren und Lämmern, die postnatal BPA ausgesetzt waren, war die ovarielle Follikelreserve reduziert, mit "einem Rückgang des Bestands an Primordialfollikeln, einem Anstieg der antralen atretischen Follikel, einer höheren Inzidenz multipler Oozytenfollikel und einem geringeren Ovarialgewicht" (Zhang et al., 2014).

2.5.4.4 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Eizellreifung

Bei einer Vielzahl von Tierarten wurden sowohl die BPA- als auch die BPS-Exposition mit erhöhtem oxidativem Stress, beeinträchtigter Eizellreifung und veränderten Organgewichten in Verbindung gebracht (Susiarjo et al., 2007; Herrero et al., 2018).

BPA beeinträchtigt die Reifung der Eizelle (Zhou et al., 2016). Unfruchtbare Frauen haben im Vergleich zu fruchtbaren Frauen höhere BPA-Serumspiegel. Bei Frauen, die sich einem In-vitro-Verfahren unterziehen, korreliert ein höherer BPA-Spiegel im Urin negativ mit der Eizellreifung und den Spitzenkonzentrationen von Estradiol (Mok-Lin et al., 2010). Die tägliche Exposition gegenüber BPA verringert die ovarielle Reserve (Richter et al., 2007).

Auch in einer anderen Kohortenstudie von Ehrlich et al. korrelierte eine höhere BPA-Konzentration im Urin mit einer geringeren Eizellausbeute und einem niedrigeren E2-Serumspiegel (Ehrlich et al., 2012).

Laut Fujimoto et al. war bei Frauen, die sich einer intrazytoplasmatischen Spermieninjektion unterzogen, eine höhere BPA-Konzentration im Serum mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit reifer Eizellen verbunden (Fujimoto et al., 2011).

Chao et al. fanden jedoch keine Korrelation zwischen BPA und E2 bei gesunden erwachsenen Frauen (Chao et al., 2012). Bei Frauen mit polyzystischem Ovarsyndrom (PCOS) fanden Kandaraki et al. jedoch "einen signifikanten Zusammenhang zwischen BPA und erhöhten Androgenkonzentrationen" (Kandaraki et al., 2011). In einer anderen Kohortenstudie wurde die Auswirkung des BPA-Serumspiegels auf die Eizellreifung untersucht. In der gesamten Kohorte von 57 Frauen wurde kein Zusammenhang zwischen BPA-Spiegeln und Eizellreifung festgestellt. In einer Subanalyse wurde jedoch bei neun asiatischen Frauen, die sich einer ICSI unterzogen, ein Rückgang der Wahrscheinlichkeit reifer Eizellen um 9 % festgestellt (Fujimoto et al., 2011).

2.5.4.5 BPA Exposition und deren Einfluss auf die frühen Stadien der Meiose

Die frühen Stadien der Follikelbildung bis zur Prophase I der ersten Meiose finden im fötalen Eierstock statt. Während der ersten Prophase kommt es zur Paarung, Synapse und Rekombination zwischen homologen Chromosomen. Die Wirkung von BPA auf diese ersten Schritte der Meiose wurde in Tiermodellen untersucht, darunter Nagetiere und Rhesusaffen. Die Behandlung von trächtigen Mäusen während der mittleren Trächtigkeit mit täglichen niedrigen BPA-Dosen (400 ng) führte zu Anomalien in der Prophase I (z. B. synaptische Defekte und erhöhte Rekombinationsraten) in den Eizellen der exponierten Föten, ähnlich wie bei Mäusen, die homozygot für eine gezielte Störung des Östrogenrezeptors beta sind. Dies warf die Möglichkeit auf, dass eine BPA-Exposition während der frühen Stadien der Oogenese die Oogenese durch die Beeinträchtigung der Wirkung des Östrogenrezeptors beta beeinträchtigen könnte (Susiarjo et al., 2007). Bei Mäusen verzögert BPA den Zerfall von Keimzellzysten und die Bildung von Primordialfollikeln, indem es die Expression von Straß hemmt, das eine Schlüsselrolle bei der Einleitung der Meiose bei Mäusen spielt (Zhang et al., 2012). Reife weibliche Mäuse, die in utero BPA ausgesetzt waren, hatten mehr aneuploide Eizellen und Embryonen als nicht exponierte Weibchen (Susiarjo et al., 2007). Ähnliche Ergebnisse wurden bei schwangeren Rhesusaffen erzielt, die BPA während der Stadien der Keimzellendifferenzierung, des meiotischen Eintritts und der Follikelbildung ausgesetzt waren (Hunt et al., 2012).

Ähnlich wie bei den Nagetieren reagierten auch die fötalen Eierstöcke von Primaten empfindlich auf BPA und wiesen Veränderungen in der meiotischen Prophase, eine signifikante Zunahme der Rekombination und eine beeinträchtigte Follikelbildung auf (Hunt et al., 2012). In-vitro-Studien an menschlichen fötalen Eizellen haben gezeigt, dass die Exposition gegenüber BPA in frühen Stadien der Meiose zu einer erhöhten Inzidenz von Crossing Over (d.h. einer Störung der Paarungssynapse und der Rekombination) und höheren Raten der Eizelldegeneration führt (Brieno-Enriquez et al., 2011).

Eine weitere Studie derselben Gruppe zeigte, dass die Exposition menschlicher fötaler Eizellen gegenüber BPA mit einer Hochregulierung von Genen verbunden war, die an der Entstehung von Doppelstrangbrüchen, der Signalgebung und der Reparatur beteiligt sind (Brieno-Enriquez et al., 2012).

2.5.4.6 BPA Exposition und deren Einfluss auf die letzten Stadien der Meiose

Tierstudien und In-vitro-Studien am Menschen deuten darauf hin, dass die Exposition von Frauen gegenüber EDC während der pränatalen, jugendlichen und reproduktiven Phase die normale Meiose der Eizellen verändern kann (Governini et al., 2015).

Darüber hinaus wurde eine Zunahme von meiotischen Anomalien und sogar Aneuploidie bei Oozyten festgestellt, die während der letzten Phasen der Meiose BPA ausgesetzt waren (Hodges et al., 2002; Hunt et al., 2003). In einer anderen Studie, die von derselben Forschergruppe durchgeführt wurde, wurde festgestellt, dass eine BPA-Exposition während der letzten Phasen der Meiose (tägliche Injektionen von BPA (0, 20, 40 und 100 ng/g pro Körpergewicht) über 6-8 Tage) mit Störungen der meiotischen Spindel, Chromosomenfehlarrangierungen, einer erhöhten Inzidenz von meiotischem Stillstand und sogar Aneuploidie bei Mäuseozyten verbunden war (Hunt et al., 2003).

In einer anderen In-vivo-Studie wurde nachgewiesen, dass eine chronische BPA-Exposition mit einem signifikanten Anstieg der Häufigkeit aberranter Oozyten in der Metaphase II (MII) mit vorzeitig segregierten Chromatiden verbunden war (Eichenlaub-Ritter et al., 2008).

Lenie et al. (2008) zeigten, dass die Exposition gegenüber BPA in vivo und kultivierten Oozyten mit entleerten Keimblasen in vitro mit einer gestörten Spindelmorphologie und geringeren Raten von MII-Oozyten, aber keinem Anstieg der Aneuploidie verbunden war.

Darüber hinaus untersuchten Machtlinger et al. (2013) die Wirkung von BPA auf die letzten Stadien der Reifung menschlicher Eizellen in vitro. Es wurde ein Dosis-Wirkungs-Effekt zwischen der BPA-Exposition und der Oozytenreifung festgestellt. Mit zunehmender BPA-Exposition sank die Wahrscheinlichkeit, dass die Oozyten die Meiose abschließen und zu MII werden, signifikant, und die Wahrscheinlichkeit, dass sie degenerieren oder aktiviert werden, wenn ein Polkörper vorhanden ist, stieg signifikant. Die BPA-Exposition korrelierte mit einer Beeinträchtigung des Zytoskeletts bei MII-Oozyten und zeigte eine signifikant geringere Inzidenz von bipolaren Spindeln und ausgerichteten Chromosomen, je höher die BPA-Dosis war (Machtlinger et al., 2013).

Es hat sich gezeigt, dass die Exposition von Säugetierozyten gegenüber BPA zu Spindelanomalien, Chromosomenfehlarrangierungen und Aneuploidie führt (Hunt et al., 2003; Can et al., 2005; Ferris et al., 2015).

Die Behandlung von in vitro gereiften Rinder- und Schweineozyten mit BPA und BPS zeigte, dass BPA in der Lage ist, die Spindelbildung von Eizellen, die Expansion von Kumuluszellen, die meiotische Progression und die Proteine der Gap Junctions zu stören (Ferris et al., 2015; Guo et al., 2017; Sabry et al., 2021).

2.5.4.7 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Eizellenqualität & Embryoqualität

Studien an Tieren haben gezeigt, dass die negativen Auswirkungen von BPA auf die weibliche Fruchtbarkeit auf eine beeinträchtigte Zytoskelettdynamik der Eizelle, die Induktion von oxidativem Stress, erhöhte DNA-Schäden und die Veränderung des Status epigenetischer Modifikationen in der Eizelle zurückzuführen sind (Wang and Hui et al., 2017).

Ehrlich et al. (2012a) untersuchten den Zusammenhang zwischen dem Gesamt-BPA-Spiegel im Urin (die Summe aus unkonjugiertem [freiem] und konjugiertem BPA) und der Embryoqualität bei 174 Frauen, die sich 237 IVF-Zyklen unterzogen. Bei 88 % der Teilnehmerinnen wurde BPA im Urin nachgewiesen. Der geometrische Mittelwert (SD) der BPA-Konzentrationen im Urin der Kohorte betrug 1,50 (2,22) g/l. Die Autoren berichteten über einen signifikanten linearen Dosis-Wirkungs-Zusammenhang zwischen einer erhöhten BPA-Konzentration und einer verringerten Anzahl von Eizellen während der Entnahme sowie einer Abnahme der reifen Eizellen.

Die durchschnittliche Anzahl der pro Zyklus entnommenen Eizellen lag bei Frauen im niedrigsten Quartil der BPA-Konzentration bei 12 und im höchsten Quartil der BPA-Konzentration im Urin bei 9 Eizellen pro Frau. Die umgekehrte Korrelation zwischen der Anzahl der reifen Eizellen und den BPA-Konzentrationen steht im Einklang mit den Ergebnissen der In-vitro-Studie an menschlichen Eizellen von Machtinger et al. (2013).

Ehrlich et al. (2012a) berichteten ebenfalls über einen umgekehrten Zusammenhang zwischen den BPA-Spiegeln und der Rate normal befruchteter Eizellen, mit einem Rückgang von 24 bzw. 27 % für das höchste bzw. niedrigste Quartil des BPA im Urin. Zwischen den BPA-Konzentrationen im Urin und der Qualität der Embryonen am Tag 3 wurde kein Zusammenhang zwischen Dosis und Wirkung festgestellt. Die gleiche Gruppe untersuchte auch den Zusammenhang zwischen BPA-Konzentrationen im Urin und Implantationsversagen (Ehrlich et al., 2012b).

Es wurden Urinproben von 137 IVF-Patientinnen analysiert, die an einer größeren prospektiven Studie teilgenommen hatten, und die Korrelation zwischen BPA-Gehalten im Urin und der Einnistung des Embryos wurde bewertet. Die Wahrscheinlichkeit einer fehlgeschlagenen Einnistung stieg linear mit zunehmendem Quartil der BPA-Konzentrationen im Urin für die Quartile 2, 3 bzw. 4 im Vergleich zum niedrigsten Quartil. Die Ergebnisse unterschieden sich nicht, wenn man das Alter (>37 Jahre), den Tag des Embryotransfers oder das IVF-Stimulationsprotokoll berücksichtigte. Die Autoren stellten fest, dass Frauen im höchsten Quartil der Exposition (spezifisches Gewicht bereinigtes BPA im Urin, 3,80-26,48 g/L) fast doppelt so häufig von einem Implantationsversagen betroffen waren wie Frauen im niedrigsten Quartil der Exposition ($\leq 1,69$ g/L).

2.5.4.8 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Blastozystenbildung & Implantation

Die Wirkung von BPA auf die Blastozysteneinnistung und den Schwangerschaftsverlust bei Mäusen wurde untersucht (Berger et al., 2007 und 2008). Dosen von 6,75 mg/Tag und 10,125 mg/Tag BPA beeinträchtigten die normale Einnistung bei Mäusen.

Die subkutane Behandlung mit BPA in einer Konzentration von 10,125 mg/Tag war mit einem Rückgang der Anzahl der Implantationsstellen verbunden (Berger et al., 2007).

Außerdem führte die Injektion einer Einzeldosis von 10,125 mg BPA am Tag der Befruchtung oder einer Einzeldosis von 6,75 mg/ 10,125 mg BPA am Tag nach der Befruchtung zu einer Verringerung der Anzahl der Implantationsstellen (Berger et al., 2008). Die Exposition gegenüber BPA (subkutan) in einer Dosis von 3,375 mg/Tag während der ersten 4 Tage der Trächtigkeit führte zu einer signifikanten Verringerung der Wurfgröße, und die Exposition gegenüber 10,125 mg/Tag war mit einer signifikanten Verringerung der Anzahl der Trächtigkeiten verbunden (Berger et al., 2010).

In einer weiteren In-vivo-Studie zeigten Xiao et al. (2011), dass trächtige Mäuse, die subkutan mit 40 mg/kg/Tag BPA behandelt wurden, zu einer verzögerten Implantation und einer erhöhten perinatalen Sterblichkeit der Nachkommen führten. Die Injektion von 100 mg/kg/Tag BPA führte jedoch zu einer verzögerten Embryonalentwicklung und zu einem vollständigen Fehlen von Einnistungsstellen. Eine geringere BPA-Belastung führte jedoch nicht zu einer Beeinträchtigung der Einnistung (Xiao et al., 2011).

Verschiedene Forschergruppen schlugen vor, dass die BPA-Exposition die Einnistung entweder durch ein Missverhältnis zwischen dem Zeitpunkt der Blastozystenbildung und dem uterinen Rezeptivitätsfenster oder durch eine direkte Störung der uterinen Rezeptivität für die Einnistung der Blastozysten aufgrund der östrogenen Eigenschaften von BPA stören könnte (Berger et al., 2007 and 2008; Varayoud et al., 2011; Xiao et al. 2011).

Die Exposition gegenüber 100 mg/kg/Tag BPA verzögerte die Embryonalentwicklung und führte zum vollständigen Fehlen von Einnistungsstellen. Es wurde auch über das Fehlen von Einnistungsstellen berichtet, wenn unbehandelte gesunde Embryonen auf pseudoträchtige Weibchen übertragen wurden, die mit 100 mg/kg/Tag BPA behandelt wurden. Die Exposition trächtiger Mäuse gegenüber 40 mg/kg/Tag BPA führte in dieser Studie zu einer verzögerten Implantation und einer erhöhten perinatalen Sterblichkeit der Nachkommen.

2.5.4.9 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Gebärmutter

Mendoza-Rodriguez et al. (2011) zeigten, dass die Verabreichung von BPA über das Trinkwasser an Ratten (ungefähre Dosis 1,2 mg/kg KG/Tag) während der Trächtigkeit und Laktation zu einer signifikanten Zunahme der Dicke der Gebärmutterepithelien und des Stromas bei den erwachsenen weiblichen Nachkommen führte.

Die Mehrheit der BPA-exponierten Nachkommen wies auch eine verringerte epitheliale Apoptose und eine Herabregulierung der α -Östrogenrezeptorexpression in Epithelzellen während des Brunstzyklus auf.

In vitro-Studien zeigen, dass BPA in anderen Endometriumzellen offenbar unterschiedliche Wirkungen hervorruft. In der Tat wurde eine verringerte Proliferation sowohl bei menschlichen Endometriumfibroblasten, die aus Hysterektomie-Proben isoliert wurden (Aghajanova et al., 2011), als auch bei menschlichen Endometriumendothelzellen (Bredhult et al., 2009) beobachtet.

Bei erwachsenen weiblichen Nachkommen von Mäusen, denen während der Organogenese BPA injiziert wurde, wurden eine typische Hyperplasie, Stroma-Polypen der Gebärmutter sowie ein Sarkom des Gebärmutterhalses beobachtet.

Diese Läsionen traten bei den Kontrolltieren überhaupt nicht auf: Die Häufigkeit war jedoch gering und zeigte keine aussagekräftige Dosis-Wirkungs-Beziehung; daher konnte keine Schlussfolgerung gezogen werden (Newbold et al., 2009).

Nichtsdestotrotz könnten die erhöhte proliferative Aktivität und die Verringerung des programmierten Zelltods in Gebärmutterepithelzellen bei intrauteriner Exposition, wie sie bei BPA-exponierten Ratten beobachtet wurden, für eine erhöhte Prädisposition für Krebs und/oder eine tumorfördernde Wirkung sprechen (Mendoza-Rodriguez et al., 2011).

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen scheinen epidemiologische Studien am Menschen den Zusammenhang zwischen BPA und Erkrankungen der Gebärmutter Schleimhaut zu belegen (Rochester et al., 2013). Tatsächlich fanden Hiroi et al. (2004) überraschenderweise heraus, dass bei Patientinnen mit komplexer Endometriumhyperplasie der BPA-Serumspiegel sowohl im Vergleich zur Kontrollgruppe als auch zur Gruppe mit einfacher Endometriumhyperplasie deutlich niedriger war.

In der Literatur gibt es immer mehr Hinweise darauf, dass eine BPA-Exposition zu einer gestörten Aufnahmefähigkeit der Gebärmutter führen kann (Varayoud et al., 2011; Bromer et al., 2011; Xiao et al., 2011).

Varayoud et al. (2011) beobachteten bei weiblichen Ratten, denen BPA in der ersten postnatalen Woche injiziert wurde, eine niedrigere Schwangerschaftsrate und eine Verringerung der Implantationsstellen (lebende Föten plus Resorptionsstellen).

Einen anderen Effekt beobachteten Bromer et al. (2011) bei Mäusen, deren Mütter während der Organogenese (Trächtigkeitstage 9-16) in utero injiziert wurden. In diesen Fällen wurde Hoxa10 hochreguliert und die Bindung von ER α an das Hoxa10.

Estrogen Responsive Element (ERE) wurden beobachtet. Wie in anderen Fällen kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Diskrepanz zwischen den von (Varayoud et al., 2011) und (Bromer et al., 2011) beobachteten Effekten auf die unterschiedlichen Expositionsfenster, d. h. neonatal bzw. pränatal, zurückzuführen ist.

Alternativ könnte der Rückgang der Implantationsrate auf eine direkte BPA-Wirkung auf die Entwicklung und den Transport des präimplantierten Embryos zurückzuführen sein (Xiao et al., 2011).

Obwohl BPA kein genotoxisches Karzinogen ist, könnte eine BPA-Exposition während kritischer Differenzierungsphasen eine mögliche endokrin bedingte tumor erzeugende Wirkung haben.

2.5.4.10 BPA Exposition und deren Einfluss auf die Rate an Frühaborten

Es ist immer noch unklar, ob chemische Verbindungen mit dem Spontanabort im ersten Trimester in Verbindung stehen (Sugiura-Ogasawara et al., 2005). Einige Studien berichteten über eine höhere Serum-BPA-Konzentration bei Frauen mit wiederholten Fehlgeburten im Vergleich zu gesunden Kontrollen (Sugiura-Ogasawara et al., 2005; Zheng et al., 2012). Zheng et al. (2012) beobachteten sogar, dass das Risiko eines ungeklärten wiederkehrenden Spontanaborts mit zunehmendem BPA-Serumspiegel progressiv anstieg. Sugiura-Ogasawara et al. (2005) schlugen vor, dass der Mechanismus, der zu einer erhöhten Inzidenz von Fehlgeburten aufgrund von BPA-Exposition führt, eine Zunahme von embryonalen Chromosomenanomalien ist

2.5.4.11 BPA Exposition und deren Einfluss auf Reproduktionsbehandlungen

Es hat sich gezeigt, dass eine BPA-Exposition in der Ernährung (5 mg/kg) die Gehirn- und Eierstockfunktionen auf transgenerationale Weise beeinträchtigt, was wahrscheinlich zu veränderten Fortpflanzungsergebnissen beiträgt (Drobna et al., 2018).

Es häufen sich auch Hinweise auf mögliche negative Auswirkungen von BPA auf das Ergebnis einer IVF (Mok-Lin et al., 2010; Bloom et al., 2011a; Fujimoto et al., 2011; Ehrlich et al., 2012a and 2012b).

In einer präkonzeptionellen Kohorte, in der Männer und Frauen untersucht wurden, die eine Fruchtbarkeitsuntersuchung anstrebten, waren höhere BPA-Konzentrationen im Urin mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit einer Implantation, einer klinischen Schwangerschaft und einer Lebendgeburt sowie mit einer Abnahme der Anzahl der Antralfollikel verbunden (Messerlian et al., 2018).

Außerdem verringerte die BPA-Exposition die Empfänglichkeit der Gebärmutter, die für die Einnistung eines Embryos so wichtig ist (Newbold et al. 2009; Signoril et al., 2010; Xiao et al., 2011). Diese Erkenntnisse wurden beim Menschen bisher nur teilweise bestätigt [Bromer et al., 2010]. Ehrlich et al. zufolge war bei Frauen, die sich einer In-vitro-Fertilisation unterzogen, ein höherer BPA-Gehalt im Urin mit einem höheren Implantationsversagen verbunden, aber dieser Trend erwies sich als statistisch nicht signifikant (Ehrlich et al., 2012).

Sugiura-Ogasawara et al. fanden höhere Serum-BPA-Werte bei Frauen, die wiederholt Fehlgeburten erlitten, und außerdem "gab es einen Trend zu höheren BPA-Werten bei Frauen mit abnormalen Embryonen" (Sugiura-Ogasawara et al., 2005).

2.5.4.12 BPA Exposition und deren Einfluss auf das fetale und jugendliche Wachstum

Die Exposition gegenüber Umweltverschmutzung während der kritischen Entwicklungsphase der Schwangerschaft oder der Kindheit kann Auswirkungen auf das spätere Leben haben. Es gibt mehrere Humanstudien zu PBS und seinem Einfluss auf Wachstum und Körpergewicht.

Cantonwine et al. (2013) führten eine Studie durch, um den Zusammenhang zwischen der BPA-Konzentration während der Schwangerschaft und dem fötalen Wachstum zu bestimmen. Sie fanden heraus, dass Kinder von Frauen mit höheren BPA-Konzentrationen in der Gebärmutter langsamer wachsen und der Kopf kleiner ist als bei Kindern, deren Mütter niedrigere BPA-Konzentrationen

aufwiesen. Sie wiesen darauf hin, dass eine BPA-Exposition während der Schwangerschaft das fötale Wachstum beeinträchtigen kann.

Die meisten der bisherigen Längsschnittstudien über BPA am Menschen beziehen sich auf das Wachstum und das Körpergewicht (nicht auf Diabetes), und zwar alle bei den in den USA üblichen Expositionswerten.

Niederländische Säuglinge, die von Frauen mit einer höheren BPA-Belastung geboren wurden, hatten kleinere Köpfe und wuchsen im Mutterleib langsamer als Säuglinge, deren Mütter eine geringere BPA-Belastung aufwiesen. Die Ergebnisse waren umso signifikanter, je häufiger die BPA-Konzentration während der Schwangerschaft gemessen wurde; je mehr Messungen, desto signifikanter (viele andere BPA-Studien stützen sich auf eine einzige Messung von BPA, die weniger genau ist - in dieser Studie wurde BPA mehrfach gemessen). Die Studie legt nahe, dass eine BPA-Exposition während der Schwangerschaft das Wachstum des Fötus beeinträchtigen kann (Cantonwine et al., 2013).

Pränatale BPA-Werte wurden auch mit einem höheren Blutdruck bei niederländischen Jungen, aber einem niedrigeren Blutdruck bei Mädchen in Verbindung gebracht (Sol et al., 2020). In einer anderen Studie wurde jedoch kein Zusammenhang zwischen pränatalen BPA-Spiegeln und gewichtsbezogenen Messungen in der Kindheit festgestellt (Sol et al., 2020).

Die Krankenhäuser der University of Michigan fanden heraus, dass die BPA-Exposition mit einem niedrigeren Geburtsgewicht und einer größeren Körpergröße verbunden war (Veiga-Lopez et al., 2015). (man beachte, dass ein geringeres Geburtsgewicht mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes und anderen Folgeerkrankungen assoziiert ist).

Eine Meta-Analyse von acht Studien fand jedoch keinen Zusammenhang zwischen der pränatalen BPA-Belastung und dem Geburtsgewicht (Hu et al., 2018). Mütterliche (aber nicht väterliche) BPA-Werte vor der Empfängnis waren jedoch mit einem niedrigeren Geburtsgewicht assoziiert, was interessant ist, da Expositionen vor der Empfängnis noch nicht wirklich viel untersucht wurden (Mustieles et al., 2018). Die pränatale Exposition gegenüber BPA-Ersatzstoffen, BPF und BPS, ist ebenfalls mit einem niedrigeren Geburtsgewicht verbunden (Hu et al., 2018).

In Spanien wurden pränatale BPA-Werte mit einem erhöhten Taillenumfang und einem höheren Body-Mass-Index (BMI) bei Kindern im Alter von 4 Jahren in Verbindung gebracht, jedoch nicht in früheren Jahren (Valvi et al., 2013). Dieselbe Studie, die 27 verschiedene endokrin wirksame Chemikalien einbezog, ergab, dass die In-Utero-Konzentrationen verschiedener persistenter organischer Schadstoffe mit Übergewicht/einem höheren BMI im Alter von 7 Jahren verbunden waren, während andere Chemikalien (BPA, Arsen, Phthalate, Flammschutzmittel, Blei und Cadmium) nicht damit in Verbindung gebracht wurden (Agay-Shay et al., 2015).

2.6. BPA Exposition beim Mann

Pestizide und Phthalate induzieren nicht nur oxidativen Stress, sondern können in Tiermodellen auch die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse stören (Queiroz und Waissmann, 2006). Die Hemmung des GnRH hemmt die Freisetzung von LH und FSH. Dies führt zu einer Hemmung der Gametogenese und der Steroidogenese, was sich nachteilig auf die Spermienfunktion und die Hodenatrophie auswirkt.

Die ersten Studien zu BPA, die Auswirkungen auf das sich entwickelnde männliche Fortpflanzungssystem beschrieben (Nagel et al., 1997), wurden schnell durch zwei von der Kunststoffindustrie finanzierte Studien widerlegt (Ashby et al., 1999; Cagen et al., 1999). Die orale Verabreichung von 2 µg BPA/kg/Tag an trächtige weibliche CD-1-Mäuse führte bei den männlichen Nachkommen zu einer Vergrößerung der Prostata (Nagel et al., 1997; Judy, B.M. et al., 1999) sowie zu schädlichen Auswirkungen auf andere akzessorische Fortpflanzungsorgane der männlichen Nachkommen im Erwachsenenalter (vom Saal et al., 2005).

Spätere Studien von Prins und Kollegen haben Auswirkungen von BPA auf die epigenetische Programmierung der Prostata und auf Prostata-Vorläuferzellen gezeigt und sind zu dem Schluss gekommen, dass eine BPA-Exposition im frühen Leben das Risiko für Prostatakrebs erhöht (Prins et al., 2018).

BPA-Belastungen erhöhen die Empfindlichkeit der Prostata gegenüber Hormonbelastungen im Erwachsenenalter und erhöhen das Auftreten von Harnröhrenobstruktion in Verbindung mit Hydronephrose (Taylor et al., 2020), Prostatitis und Prostataepithelhyperplasie sowie prostaticher intraepithelialer Neoplasie (Nelles et al., 2011).

BPA stört die Differenzierung der Spermatogonialstammzellen während des fötalen Lebens bei Mäusen (Vrooman et al., 2015), was zu einer verminderten Spermienproduktion im Erwachsenenalter führt (vom Saal et al., 1998).

Die BPA-Exposition im Erwachsenenalter führt zu einer deutlichen Verringerung der Spermatogenese (Sakaue et al., 2001), die mit einer Hemmung der Hirn-Hypophysen-Hoden-Achse und einem verringerten Testosteronspiegel einhergeht (Pallotti et al., 2020).

Laborstudien an männlichen Nagetieren haben gezeigt, dass eine BPA-Exposition mit Entwicklungsanomalien im Urogenitalbereich, einem verringerten Gewicht der Nebenhoden, einem erhöhten Gewicht der Prostata, einer verringerten Anzahl und Qualität der Spermien, DNA-Schäden in den Spermien und epigenetischen Veränderungen bei den Nachkommen verbunden war (Manikkam et al., 2013; Wright et al., 2014).

2.7 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)

Sauerstoff ist für die Aufrechterhaltung des Lebens unerlässlich. Seine schädigende Wirkung auf lebende Zellen durch die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies ist jedoch ein Paradoxon des Zellstoffwechsels (Rice-Evans et al., 1995). Diese freien Radikale mit ungepaarten Elektronen sind Gifte, die entstehen, wenn die Körperzellen Sauerstoff zur Verarbeitung von Nahrungsmitteln oder zur Reaktion auf die Umwelt verwenden. Sie haben eine schädigende Wirkung durch nachteilige Reaktionen auf verschiedene Bestandteile der Zelle (Ray et al., 2012).

Ein hohes Maß an ROS stört die mitochondrialen Membranen, was zur Aktivierung von Caspasen und schließlich zur Apoptose führt (Agarwal et al., 2008). Die Freisetzung von Cytochrom c während des apoptotischen Weges erhöht die ROS-Konzentration weiter, fördert die Schädigung und Fragmentierung der DNA und kann den apoptotischen Zyklus verstärken (Thomson et al., 2009).

In den letzten Jahrzehnten hat es ein enormes Interesse an sauerstofffreien Radikalen, allgemeiner bekannt als "reaktive Sauerstoffspezies" (ROS) und "reaktive Stickstoffspezies" (RNS) in experimentellen und klinischen Studien zu verschiedenen Umweltschadstoffen gegeben (Salnikow et al., 2004).

Im weiblichen Fortpflanzungstrakt spielen ROS eine physiologische und pathologische Rolle. Verschiedene Forscher haben das Vorhandensein von ROS in vielen Teilen des weiblichen Fortpflanzungstrakts nachgewiesen: in den Eierstöcken (Behrman et al., 2001; Sabatini, 1999), den Eileitern (El Mouatassim wet al., 1999) und den Embryonen (Guerin et al., 2001). ROS stören die Modulation der physiologischen Fortpflanzungsfunktionen wie die Eizellreifung, die ovarielle Steroidogenese, die Funktion des Corpus luteum und die Luteolyse des Corpus leuteum (Behrman et al., 2001; Sabatini et al., 1999). Erhöhte ROS-Konzentrationen können zu nachteiligen Auswirkungen auf den Embryo führen. Es wurde über eine verstärkte zytoplasmatische Fragmentierung des Embryos und Apoptose als Folge von OS berichtet (Yang et al., 1998). Somit spielen ROS eine wichtige physiologische Rolle im weiblichen Fortpflanzungstrakt, angefangen bei der Bestimmung der Reaktion der Eierstöcke bis hin zur Befruchtung, Embryonalentwicklung und Schwangerschaft (Agarwal und Allamaneni, 2004). ROS in Kulturmedien beeinflussen die Befruchtung, die Embryonalentwicklung und die klinischen Schwangerschaftsraten. Erhöhte ROS-Konzentrationen in den Kulturmedien an Tag 1 wurden mit niedrigeren Schwangerschaftsraten sowohl bei IVF als auch bei ICSI in Verbindung gebracht (Bedaiwy et al., 2004).

2.7.1 Intrinsische Produktion von ROS

Beim aeroben Stoffwechsel in Zellen entstehen ROS als Nebenprodukt. Der Prozess der oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien verwendet Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NADH) als Elektronendonator und O₂ als Elektronenakzeptor in der Elektronentransportkette, wobei sowohl Reduktions- als auch Oxidationsreaktionen mit der Synthese von Adenosintriphosphat (ATP) gekoppelt werden. Diese Redoxreaktionen finden in den Mitochondrien statt, wobei 1-5 % des durch den aeroben Stoffwechsel verbrauchten O₂ in ein ROS als Nebenprodukt umgewandelt werden (Boveris und Chance, 1973).

Der aerobe Stoffwechsel ist mit der Erzeugung von ROS (Pro-Oxidantien) verbunden (Agarwal und Allamaneni, 2004 a,b).

Daher werden die mitochondriale Atmungskette und die Stoffwechselprozesse als die Hauptquellen von ROS angesehen (Brieger et al., 2012). Ungefähr 1 % des durch den Stoffwechselweg verbrauchten O₂ wird in das Sauerstoffradikal (O₂⁻) umgewandelt, das als Vorläufer der meisten ROS fungiert.

Der Elektronenaustritt aus der inneren Mitochondrienmembran während der oxidativen Phosphorylierung kann die zellulären Makromoleküle während des Follikelwachstums schädigen. Folglich stellen Antioxidantien wichtige Abwehrmechanismen dar, die es den Zellen ermöglichen, in einer oxidativen Umgebung zu funktionieren, einschließlich des vorübergehenden Anstiegs der ROS-Aktivität, der mit dem Eisprung einhergeht (Shkolnik et al., 2011; Siristatidis et al., 2015).

Obwohl unter physiologischen Bedingungen eine bestimmte Menge an ROS erforderlich ist, kann ein gestörtes Gleichgewicht zwischen pro-oxidativen und anti-oxidativen Molekülen schädliche Auswirkungen auf die Follikulogenese und eine angemessene Embryonalentwicklung haben (Attaran et al., 1998; Das et al., 2006; Elizur et al., 2014).

2.7.2 extrinsische Quellen von ROS

Zu den extrinsischen Quellen von ROS gehören: Leukozyten, Zigarettenrauchen, erhöhte Hodensacktemperatur, elektromagnetische Strahlung (Mobiltelefon) und phosphororganische Pestizide (Agarwal et al., 2008). Industrielle Expositionen sind zwar selten, aber eine Ursache für eine erhöhte ROS-Produktion und DNA-Schäden bei Spermien. Die Exposition gegenüber Schwermetallen (z. B. Cadmium, Blei, Eisen und Kupfer), Pestiziden, Phthalaten und Umweltverschmutzung kann zu Spermenschäden führen (Tremellen, 2008).

ROS und RNS entstehen bei Bestrahlung oder metallkatalysierten Reaktionen, in der Atmosphäre als Schadstoffe oder einfach bei Entzündungen im physiologischen System. Einige Beispiele für freie Radikale sind Wasserstoffperoxid, Singulett-Sauerstoff, hypochlorige Säure, Superoxid-Radikale, Hydroxyl-Radikale und Stickstoffoxid (Halliwell et al., 2004).

Der Gehalt an reaktiven Sauerstoffspezies in der Follikelflüssigkeit und die Zusammensetzung der Follikelflüssigkeit spiegelt alle metabolischen und hormonellen Prozesse wider, die in der Mikroumgebung der heranreifenden Eizelle ablaufen, und kann ein Prädiktor für Ergebnisparameter wie Befruchtung, Embryonenspaltung und Schwangerschaftsraten bei der IVF sein (Dumesic et al., 2015).

Außerdem können ROS epigenetische Modifikationen verändern. Dieser Aspekt ist besonders wichtig, da veränderte genetische Signaturen zu Krankheiten bei den Nachkommen führen können (DeIurto et al., 2013).

2.7.3 Oxidativer Stress

Von oxidativem Stress spricht man, wenn in einem System ein Ungleichgewicht zwischen Oxidations- und Reduktionsreaktionen besteht, was zur Bildung von überschüssigen Oxidantien oder Molekülen führt, die ein Elektron von einem anderen Reaktanten aufnehmen (Henkel, 2011). Häufige Moleküle, die das ungepaarte Elektron aufnehmen, sind Lipide in Membranen und Kohlenhydrate in Nukleinsäuren (Tremellen, 2008).

ROS mit geringen Konzentrationen sind innerhalb der Zelle essentiell, da sie als physiologischer Signalgeber fungieren können (Niki, 2016). Stress kann daher auch hier in Eustress und Distress unterteilt werden, wobei Eustress sich auf positiven oder guten Stress bezieht, da er für die Zelle von Vorteil ist, während Distress sich auf negativen oder schlechten Stress bezieht, da er für die Zelle schädlich ist (Li et al., 2016).

Oxidativer Stress tritt auf, wenn die Erzeugung von ROS die Produktion von Antioxidantien übersteigt; dies ist gekennzeichnet durch eine Störung des Pro-Oxidant-Antioxidantien-Gleichgewichts mit einer Zunahme des Pro-Oxidantiums, was zu oxidativen Schäden führt (Sies, 1991).

Die Zelle kann auf verschiedene Weise reagieren, wenn sie von ROS angegriffen wird: Sie kann sich vermehren oder ihre Teilung einstellen, oder sie kann sich für Seneszenz, Nekrose oder Apoptose entscheiden (Harwell, 2007). Es gibt deutliche Hinweise darauf, dass oxidativer Stress bei der

Entstehung von Unfruchtbarkeit verursachenden Krankheiten bei Frauen eine Rolle spielt und als einer der wichtigsten Faktoren angesehen wird, die sich negativ auf die Fruchtbarkeit auswirken.

Verschiedene Studien haben gezeigt, dass OS einen Einfluss auf die Produktion von Steroidhormonen aus den Granulosazellen des Eierstocks hat, insbesondere auf den E2-Spiegel, der ein wichtiger Prädiktor für die ovarielle Reaktion ist. Tag 3 FSH (Ahmed et al., 1994; Klein et al., 1996) und E2 (Smotrich et al., 1995; Licciardi et al., 1995) werden häufig als prognostische Tests für die ovarielle Reserve verwendet.

Darüber hinaus können unter OS-Bedingungen Beeinträchtigungen der Fortpflanzung und der Fruchtbarkeit induziert werden, wie z. B. eine Beeinträchtigung der Eierstockfunktionen, eine Verschlechterung der Eizellmenge, Störungen der Embryonalentwicklung, gynäkologische Erkrankungen und Unfruchtbarkeit (Agarwal et al., 2006 and 2012).

Darüber hinaus kann oxidativer Stress vielfältige physiologische Mechanismen wie die Reifung der Eizelle, die Befruchtung, die Implantation und die Entwicklung des Embryos beeinträchtigen und trägt somit zur Pathophysiologie von schwangerschaftsbedingten Komplikationen, Endometriose, polyzystischen Ovarialerkrankungen, ungeklärter Unfruchtbarkeit und gynäkologischen Krebserkrankungen bei (Mbah et al., 2019).

Oxidativer Stress ist einer der wichtigsten Mechanismen, die an der Vermittlung der schädlichen Auswirkungen von Umweltschadstoffen auf die männliche Fortpflanzung beteiligt sind (Darbandi et al., 2018; Rehman et al., 2019), da erhöhte ROS-Werte die Aktivität steroidogener Enzyme hemmen und apoptotische Wege im Hoden aktivieren, was zu einer Beeinträchtigung der Steroidogenese bzw. Spermatogenese führt (Quan et al., 2017; Sheweita et al., 2016; Shi et al., 2018).

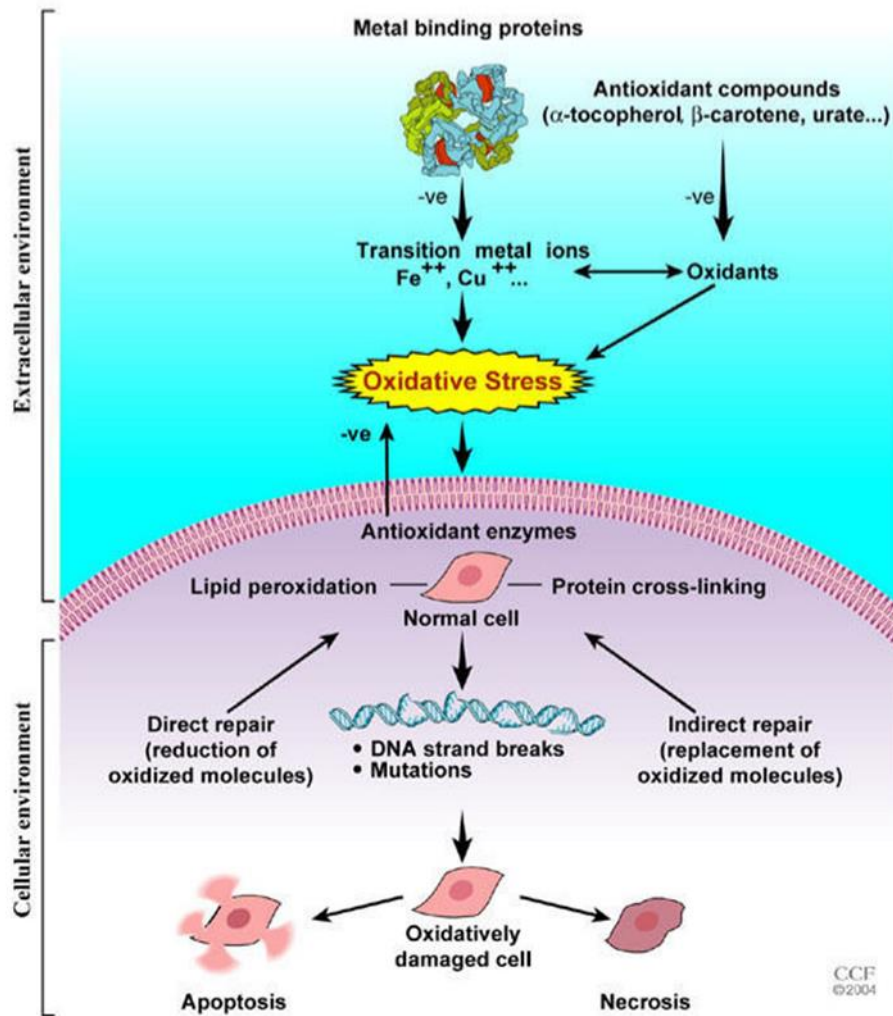


Abb.3: Mechanismen der durch oxidativen Stress ausgelösten Zellschäden (Agarwal A; Gupta S; und Sharma RK. Die Rolle von oxidativem Stress bei der weiblichen Fortpflanzung Reproduktionsbiologie und Endokrinologie, 2005)

Durch ROS kommt es bei oxidativem Stress, welcher durch ein Ungleichgewicht an Oxidantien und Antioxidantien entsteht, zu Lipidperoxidation, Enzymhemmung, Proteinschädigung sowie DNA-Schädigungen. Zur Reparatur sind direkte und indirekte Wege vorhanden, die Zelle reagiert zudem mit Ausschüttung von Antioxidantien. Ist die Zelle irreparabel oxidativ geschädigt, so führt dies zu Zelltod durch Apoptose oder Nekrose (Agarwal et al., 2005); (Abb.3).

Die Follikelflüssigkeit kann als biologisches "Fenster" betrachtet werden, das die metabolischen und hormonellen Prozesse widerspiegelt, die in der Mikroumgebung der heranreifenden Eizelle vor dem Eisprung ablaufen, und auch als Prädiktor für Ergebnisparameter wie Befruchtung, Embryonenspaltung und Schwangerschaftsraten bei der IVF (Wiener-Megnazi et al., 2004).

Eine physiologische Menge an ROS in der Follikelflüssigkeit deutet auf eine gesunde Entwicklung der Eizellen hin (Attaran et al., 2000).

ROS hat über seine physiologische Wirkung hinaus auch eine schädigende Auswirkung auf die Qualität von Eizellen und Embryonen. Die Auswirkungen von ROS und ihre Fähigkeit, die weibliche Fortpflanzung zu beeinflussen, wurden an verschiedenen Endpunkten in Bezug auf die Eizelle, die Befruchtung, den Embryo und die Schwangerschaft untersucht. In verschiedenen Studien wird über unterschiedliche Marker für oxidativen Stress berichtet, wobei die Empfindlichkeit und Spezifität der verschiedenen Biomarker nicht bekannt sind. Während sich einige Forschungsarbeiten auf die Untersuchung der antioxidativen Kapazität konzentrieren, wurde bei anderen die mechanische Beseitigung von ROS bei IVF/ET untersucht (Lornage et al., 2003).

Darüber hinaus führt ein Ungleichgewicht im Redoxzustand des sich entwickelnden Embryos infolge suboptimaler Kulturbedingungen zu einer veränderten Genexpression und einer beeinträchtigten Adenosintriphosphatbildung (Hyslop et al., 1988), wobei letzteres das Plazenta- und Embryowachstum beeinträchtigen kann (Harvey et al., 2002).

Die mitochondriale Atmungskette und die Stoffwechselprozesse gelten als die Hauptquellen für ROS (Brieger et al., 2012). Ungefähr 1 % des durch den Stoffwechselweg verbrauchten O₂ wird in das Sauerstoffradikal (O₂⁻) umgewandelt, das als Vorläufer der meisten ROS fungiert.

Die Zelle versucht, ein Gleichgewicht zwischen den Konzentrationen von ROS und Antioxidantien aufrechtzuerhalten, wobei die Antioxidantien das Niveau der ROS kontrollieren, ohne sie zu eliminieren, da ihre Eliminierung in Bezug auf die benötigte Energie innerhalb der Zelle sehr kostspielig wäre und die Antioxidantien auch einigen hochreaktiven ROS, wie dem Hydroxylradikal (OH[•]), nicht widerstehen können (Nathan, 2003). Ein weiterer Grund dafür, ROS in geringen Mengen zu halten, ist, dass sie eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Genexpression spielen, wie z. B. Stickstoffmonoxid (NO) (Kunsch & Medford, 1999).

Erhöhte NO-Konzentrationen in den Eileitern sind zytotoxisch für die eindringenden Mikroben und können zum Beispiel auch für die Spermien toxisch sein (Rosselli et al., 1995).

Antioxidantien schützen die Zellen vor ROS, indem sie diese in unreaktive Derivate umwandeln. Zu ihnen gehören viele Verbindungen, z. B. Glutathion-S-Transferase, Methioninsulfoxid-Reduktase, Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase, Katalase und Thioredoxin-Reduktase. Außerdem sind mehrere metallbindende Proteine wie Ferritin und Ceruloplasmin sowie verschiedene Metaboliten, Cofaktoren und Multivitamine beteiligt. Außerdem gehören zu den Antioxidantien einige Metallionen wie Zink, Magnesium und Mangan (Halliwell, 1996).

Oxidativer Stress bei Frauen, die sich einer Gonadotropinstimulation unterziehen, hat bisher wenig Beachtung gefunden. Es gibt deutliche Hinweise darauf, dass oxidativer Stress an der Pathogenese von

Krankheiten beteiligt ist, die zu Unfruchtbarkeit bei Frauen führen, und dass er einer der wichtigsten Faktoren ist, die das Ergebnis einer ART negativ beeinflussen (Agarwal et al., 2005; Agarwal et al., 2006; Chandra et al., 2009; Marsillach 2010).

Bei normalen Schwangerschaften wurde ein starker Anstieg der Expression von Markern für oxidativen Stress im Trophoblasten festgestellt, und es wurde spekuliert, dass dieser oxidative Ausbruch, wenn er übermäßig ist, eine Ursache für einen frühen Schwangerschaftsverlust ist (Burton et al., 2003).

Unkontrollierte und übermäßige ROS könnten jedoch ein wichtiger Faktor in der Pathophysiologie der Unfruchtbarkeit sein. Tatsächlich wurde bei unfruchtbaren Männern ein erhöhter ROS-Gehalt im Samenplasma und in den Spermien, eine verringerte antioxidative Kapazität und eine erhöhte Anzahl mitochondrialer DNA-Mutationen oder nukleärer DNA-Fragmentierungen festgestellt (Zini et al., 1993; Kumar et al., 2009; Mahfouz et al., 2010).

Zu den Stellen im Spermien genom, die besonders empfindlich auf OS reagieren, gehören die Telomere sowie das periphere Kernkompartiment, das histongebundene DNA (5-15 %) enthält (Kumar et al., 2013).

Diese Umgebung enthält neben Granulosazellen, Wachstumsfaktoren und Steroidhormonen auch Leukozyten, Zytokine und Makrophagen, die alle ROS produzieren können (Attaran et al., 2000).

Das et al. (2006) weisen darauf hin, dass hohe ROS-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit von Frauen mit Eileiterunfruchtbarkeit das Befruchtungspotenzial der Eizellen verringern und offenbar eine wichtige Rolle bei der Embryonenbildung und -qualität spielen.

Es wird angenommen, dass DNA-Schäden in Spermien durch verschiedene Mechanismen ausgelöst werden, darunter Apoptose während der Spermatogenese, Induktion von DNA-Strangbrüchen während des Umbaus des Spermienchromatins, DNA-Fragmentierung durch endogene Caspasen und Endonukleasen, Strahlen- und Chemotherapie, Umweltgifte und Xenobiotika sowie durch oxidativen Stress ausgelöste DNA-Schäden (Kumar et al., 2013).

2.7.4 ROS und Fertilität und Gravidität

Die Reproduktionsbiologie der Frau ist ein komplexes System, dessen Pathologien vielfältig sind. Bei der Mehrzahl der pathologischen Prozesse spielen jedoch reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine entscheidende Rolle. Ein Ungleichgewicht zwischen ROS und Antioxidantien führt zu oxidativem Stress (OS). OS ist der pathognomonische Faktor bei verschiedenen Erkrankungen des weiblichen Fortpflanzungssystems. OS trägt zur Pathophysiologie von Unfruchtbarkeit, schwangerschaftsbedingten Komplikationen, Endometriose, Eierstockkrebs usw. bei. Erhöhte Biomarker für oxidativen Stress lassen sich bei verschiedenen Entzündungszuständen nachweisen.

OS beeinflusst die gesamte reproduktive Lebensspanne von Frauen und sogar noch danach (d. h. in der Menopause). Es wurde vermutet, dass der altersbedingte Rückgang der Fruchtbarkeit durch OS moduliert wird (de Bruin et al., 2002). Es spielt eine Rolle während der Schwangerschaft (Myatt und Cui, 2004) und bei der normalen Geburt (Fainaru et al., 2002, Mocatta et al., 2004) sowie bei der Auslösung von Frühgeburten (Wall et al., 2002; Pressman et al., 2003).

So schafft die Follikelflüssigkeit eine metabolisch aktive Mikroumgebung, in der die Eizellen leben und die u. a. Steroidhormone, Wachstumsfaktoren, Zytokine, Granulosazellen, Makrophagen und Leukozyten enthält (Agarwal und Allamaneni, 2004).

In der Follikelflüssigkeit von Patientinnen, die sich einer ovariellen Stimulation für eine ART-Behandlung unterziehen, wurden oxidative Stressfaktoren gefunden (Tsafiriri und Reich, 1999; Attaran et al., 2000; Paszkowski et al., 2002; Oyawoye et al., 2003).

Schlecht vaskularisierte Follikel führten zu einer geringen intrafollikulären Sauerstoffzufuhr, was zu einem verringerten Entwicklungspotenzial der Eizellen, einer zunehmenden Häufigkeit zytoplasmatischer Defekte der Eizellen, einer gestörten Spaltung und einer abnormalen Chromosomensegregation führte (Van Blerkom et al., 1997). Außerdem können ROS eine erhöhte Fragmentierung und Apoptose des Embryos verursachen (Yang et al., 1998). Ein erhöhter ROS-Gehalt führt auch zu einer Beeinträchtigung des Wachstums und der Entwicklung des Embryos. Aktuelle Studien konzentrieren sich auf die Fähigkeit von Wachstumsfaktoren, in vitro kultivierte Embryonen vor den schädlichen Auswirkungen von ROS wie Apoptose zu schützen.

Die Wachstumsfaktoren, die normalerweise in den Eileitern und der Gebärmutter Schleimhaut zu finden sind, wie der Insulin-Wachstumsfaktor (IGF)-1 und der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) in Mäuseembryonen, die in vielerlei Hinsicht menschlichen Embryonen ähneln (Kurzawa et al., 2004), sind jedoch in der Lage, in vitro kultivierte Embryonen vor den schädlichen Auswirkungen von ROS wie Apoptose zu schützen.

Es gibt immer mehr Literatur über die Auswirkungen von OS auf die weibliche Fortpflanzung mit Beteiligung an der Pathophysiologie der Präeklampsie (Tranquilli et al., 2004; Takagi et al., 2004), der hydatidiformen Mole (Harma und Erel, 2004), durch freie Radikale verursachte Geburtsfehler (Loeken et al., 2004) und andere Situationen wie Aborte (Lagod et al., 2001).

Erhöhte Plasma- und FF-Marker für oxidativen Stress und verringerte Spiegel von Antioxidantien wurden bereits mit schlechten Ergebnissen bei der In-vitro-Fertilisation (IVF) in Verbindung gebracht (Berker et al., 2009; Rizzo et al., 2012; Takahashi, et al. 2013). Mehrere Autoren haben die Follikelentwicklung, die Eizellenqualität, die Befruchtung, die Embryonalentwicklung und die weibliche Unfruchtbarkeit im Zusammenhang mit oxidativem Stress untersucht, sowohl auf systemischer als auch auf lokaler Ebene (Becatti et al., 2016; Barygina, 2015).

Es wird angenommen, dass der Verlust des Gleichgewichts zwischen oxidativen und antioxidativen Molekülen im Serum und in der Follikelflüssigkeit (FF) für eine anomale Entwicklung der Eizellen aufgrund von DNA- und Zellmembranschäden verantwortlich ist, was zu einer verminderten Eizellenqualität, aber auch zu einer veränderten Befruchtung, Embryoqualität, Implantation und Embryonalentwicklung führen würde (Devine et al., 2012; Agarwal et al., 2012).

Oxidativer Stress führt zu einer Rückbildung des Gelbkörpers (Garcia-Pardo et al., 1999) und damit zu einer fehlenden Unterstützung der Schwangerschaft durch den Gelbkörper (Agarwal et al., 2004). OS kann die Eizellen in den sich entwickelnden Follikeln, die Eizellen und Spermien in der Peritonealhöhle oder den Embryo im Eileiter schädigen (Guerin et al., 2001; Bedaiwy et al., 2004).

OS kann jedoch überwunden werden, indem die Bildung von ROS reduziert oder die Menge der verfügbaren Antioxidantien erhöht wird. Zellen haben eine breite Palette von Antioxidanzsystemen entwickelt, um die Produktion von ROS zu begrenzen, sie zu inaktivieren und Zellschäden zu reparieren (Van Langendonck et al., 2002; Szczepanska et al., 2003; Pierce et al., 2004; Agarwal et al., 2004).

Es gibt ein gewisses Verständnis darüber, wie ROS eine Reihe von physiologischen Funktionen (d.h. Eizellreifung, ovarielle Steroidogenese, Eisprung, Einnistung, Blastozystenbildung, Luteolyse und Lutealerhaltung in der Schwangerschaft) beeinflussen (Suzuki et al., 1999; Jozwik et al., 1999; Ishikawa et al., 1993, Vega et al., 1999. Sugino et al., 2000).

Die Enzyme Superoxiddismutase (SOD), Kupfer-Zink-SOD (Cu-Zn SOD) und Mangan-Superoxiddismutase (MnSOD) sind in den Granulosa- und Thekazellen des wachsenden Follikels lokalisiert worden. Die Aktivität der Selen-abhängigen Glutathionperoxidase wurde in der Follikelflüssigkeit und im Serum von Patientinnen, die sich einer IVF unterziehen, nachgewiesen. Die

Expressionsprofile der Transkripte von antioxidativen Enzymen wie Superoxiddismutase, Glutathionperoxidase und Gamma-Glutamylcystein-Synthetase in Eileitern und Eizellen von Menschen und Maus wurden ebenfalls untersucht (El Mouatassim et al., 1999).

2.7.6 Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf die Eizelle

Ein wichtiger Faktor für das Ergebnis der IVF ist die Qualität der Eizellen. Die Produktion einer lebensfähigen Eizelle wird durch ein komplexes Zusammenspiel von endokrinen, parakrinen und autokrinen Faktoren beeinflusst, die zur Follikelreifung, Granulosazellreifung, Ovulation und Luteinisierung führen.

Die Implantation ist ein sehr gut organisierter Dialog zwischen dem Embryo und der Gebärmutterumgebung. Mit der Etablierung des mütterlichen Kreislaufs kommt es zu einem Ausbruch von OS (Jauniaux et al., 2000). Oxidative Stressmarker wurden in der Follikelflüssigkeit von Patientinnen, die sich einer IVF/Embryotransfer (ET) unterziehen, lokalisiert (Attaran et al., 2000; Pasqualotto et al., 2004; Oyawoye et al., 2003, Paszkowski et al., 2002). Eine niedrige intrafollikuläre Oxygenierung wurde mit einem verringerten Entwicklungspotenzial der Eizellen in Verbindung gebracht, was sich in einer zunehmenden Häufigkeit von Zytoplasmadefekten, einer beeinträchtigten Spaltung und einer abnormalen Chromosomentrennung in Eizellen aus schlecht vaskularisierten Follikeln widerspiegelt (Van Blerkom et al., 1997). ROS können für eine verstärkte Fragmentierung des Embryos verantwortlich sein, die auf eine erhöhte Apoptose zurückzuführen ist (Yang et al., 1998).

Das et al. (2006) weisen darauf hin, dass hohe ROS-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit von Frauen mit Eileiterunfruchtbarkeit das Befruchtungspotenzial der Eizellen verringern und offenbar eine wichtige Rolle bei der Embryonenbildung und -qualität spielen.

Eine Exposition von Keimblasenoozyten gegenüber H₂O₂ oder 4HNE trägt zu einer verringerten meiotischen Vollendung, vermehrten Spindelanomalien, Chromosomenfehlarrangements und Aneuploidie bei (Mihalas et al., 2017). OS und Telomerverkürzung korrelieren exponentiell mit der Alterung somatischer Zellen (Richter und von Zglinicki). Menschliche Eizellen mit kürzeren Telomeren entwickeln sich zu stärker fragmentierten und aneuploiden Präimplantationsembryonen mit niedrigeren Implantationsraten (Keefe et al., 2005; Keefe et al., 2007), während die relative Telomerlänge in aneuploiden und euploiden ersten Polkörpern und Elastomeren vergleichbar war (Turner et al., 2019).

Mitochondriale Dysfunktion, die durch OS verursacht wird oder zu OS führt, induziert chromosomale Nicht-Disjunktion, Befruchtungsversagen und Abnahme der Embryokompetenz (Van Blerkom, 2011).

Da beim Abschluss der Meiose, bei der Befruchtung und bei der Embryonalentwicklung eine große Menge an ATP verbraucht wird, ist es möglich, dass der Rückgang der ATP-Produktion aufgrund einer Verschlechterung der Mitochondrienfunktion zu einer Abnahme der Eizellenqualität führt (Van Blerkom, 2011).

2.7.7 Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf die Embryonalentwicklung

Physiologische Redoxwerte sind für die Embryogenese wichtig. Eine übermäßige Bildung von ROS kann sich nachteilig auf die Embryonalentwicklung auswirken (Guerin et al., 2001; Harvey et al., 2002).

Ein wichtiger Faktor für das Ergebnis der IVF ist die Qualität der Eizellen. Durch OS verursachte DNA-Schäden lassen sich mit 8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin zuverlässig messen (Seino et al., 2002). Höhere Konzentrationen von 8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin wurden mit niedrigeren Befruchtungsraten und schlechter Embryoqualität in Verbindung gebracht (Seino et al., 2002).

Hohe Konzentrationen von 8-Hydroxy-2-Desoxyguanosin finden sich auch in Granulosazellen von Patientinnen mit Endometriose, was die Qualität der Eizellen beeinträchtigen kann.

Die Erfolgsraten bei der IVF werden durch das mütterliche Alter, die Anzahl der entnommenen Eizellen und die Qualität der übertragenen Embryonen beeinflusst. Bei der Maus wurde nachgewiesen, dass der Redox-Zustand und die Regulierung der ROS-Produktion eine grundlegende Bedeutung für die frühe Embryonalentwicklung haben (Dumollard et al., 2007). Stickstoffmonoxid (NO) ist ein lokaler Faktor, der an der autokrinen und parakrinen Modulation der ovariellen Follikulogenese und Steroidogenese beteiligt ist. Bei niedrigen Konzentrationen (<1 µmol/l) wird die Transduktionswirkung von NO durch die Aktivierung der löslichen Guanylzyklase und durch zyklisches Guanosinmonophosphat (cGMP) vermittelt (Hanafy et al., 2001).

Niedrige NO-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit wurden mit Follikeln in Verbindung gebracht, die reife Eizellen enthielten, die schließlich befruchtet wurden (Barrionuevo et al., 2000). Die NO-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit wurden negativ mit der Qualität der Embryonen und der Geschwindigkeit der Spaltung in Verbindung gebracht. Die NO-Konzentrationen im Serum waren bei Patientinnen mit Eileiter- oder Peritonealfaktor-Unfruchtbarkeit erhöht (Bedaiwy et al., 2004). Höhere NO-Konzentrationen werden mit Implantationsversagen in Verbindung gebracht, was zu niedrigeren Schwangerschaftsraten führt. NO kann Apoptose induzieren, was zur Fragmentierung des Embryos führt.

Die Reifung der Eizellen, die Steroidogenese der Eierstöcke, der Eisprung, die Einnistung, die Bildung der Blastozyste, die Luteolyse und die Aufrechterhaltung des Gelbkörpers in der Schwangerschaft sind physiologische Prozesse, die durch ROS beeinflusst werden (Al-Gubory et al., 2004).

Unter normalen physiologischen Bedingungen stehen ROS und Antioxidantien im Gleichgewicht. Wenn das Gleichgewicht gestört ist und ein erhöhter ROS-Spiegel auftritt, kommt es zu OS.

2.7.8 Oxidativer Stress und dessen Einfluss auf das Ergebnis der assistierten Reproduktionstechnologie

Oxidativer Stress führt zu reproduktiven Erkrankungen wie PCOS, Endometriose und ungeklärter Unfruchtbarkeit bei Frauen (Agarwal et al., 2012). Schwangerschaftskomplikationen wie Fehlgeburten, rezidivierende respiratorische Verluste (RPL), Präeklampsie und intrauterine Wachstumsrestriktion (IUGR) werden alle mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht (Webster et al., 2008).

Die ROS-Konzentration im FF korreliert positiv mit der Schwangerschaft bei Patienten, die sich einer IVF unterziehen (Attaran et al., 2000). Die Erhöhung der ROS-Konzentration spielt eine physiologische Rolle bei der Fusion von Spermien und Eizellen und verbessert die Entwicklung von Blastozysten bei Mäusen und Menschen (Bedaiwy et al., 2004 & 2006).

Ihre Rolle bei der ART beim Menschen ist noch nicht vollständig geklärt. In vivo ist der sich entwickelnde Präimplantationsembryo auf seinem Weg durch den Eileiter zur Gebärmutter Gradienten von Nährstoffen, Hormonen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren ausgesetzt (Thouas et al., 2015). Die Mikroumgebung der Follikelflüssigkeit spielt eine entscheidende Rolle bei der Bestimmung der Qualität der Eizelle. Dies wirkt sich wiederum auf die Befruchtungsrate und die Qualität des Embryos aus.

In der Follikelflüssigkeit von Patientinnen, die sich einer IVF/Embryotransfer (ET) unterziehen, wurden Marker für oxidativen Stress lokalisiert (Appasamy et al., 2008; Singh et al., 2013). Eine niedrige intrafollikuläre Oxygenierung wurde mit einem verminderten Entwicklungspotenzial der Eizellen in Verbindung gebracht, was sich in einer zunehmenden Häufigkeit von Zytoplasmadefekten, einer gestörten Spaltung und einer abnormalen Chromosomentrennung in Eizellen aus schlecht vaskularisierten Follikeln widerspiegelt (Van Blerkom et al., 1997; Qiao und Feng, 2011). ROS können für eine verstärkte Fragmentierung des Embryos verantwortlich sein, die aus einer zunehmenden Apoptose resultiert (Hardy et al., 2021). Ein erhöhter ROS-Gehalt ist daher für das Wachstum des Embryos nicht förderlich und führt zu einer Beeinträchtigung der Entwicklung. Aktuelle Studien konzentrieren sich auf die Fähigkeit von Wachstumsfaktoren, in vitro kultivierte Embryonen vor den schädlichen Auswirkungen von ROS wie Apoptose zu schützen. Diese Wachstumsfaktoren sind

normalerweise in den Eileitern und der Gebärmutter Schleimhaut zu finden. Die untersuchten Faktoren sind: Insulin-Wachstumsfaktor (IGF)-1 und epidermaler Wachstumsfaktor (EGF) in Mausembryonen, die in vielerlei Hinsicht menschlichen Embryonen ähneln (Nieto-Estévez et al., 2016).

2.7.9 Oxidativer Stress und Zigarettenrauch

Die besondere Phase des Tabakrauchs enthält mindestens 3500 chemische Verbindungen, von denen ein großer Teil toxisch, karzinogen oder mutagen ist (z. B. Benzol, 2-Naphthylamin, 210Po, 226Ra, 228Ra, Nickel, Cadmium, Benzo[a]pyren usw.) (Hecht, 1999). Es gibt mindestens 55 Karzinogene im Zigarettenrauch, die von der Internationalen Agentur für Krebsforschung (IARC) mit "ausreichenden Beweisen für Karzinogenität" bewertet wurden (Hoffman und Hoffmann 1997).

Zigarettenrauch enthält bekannte Mutagene und Karzinogene. Daher besteht die große Sorge, dass Rauchen ungünstige Auswirkungen auf die männliche Fortpflanzung haben könnte (Ramlau-Hansen et al., 2007). In den letzten zwei Jahrzehnten wurde durch eine Reihe von Studien (Leaderson et al., 1990; Asami et al., 1997; Huang et al., 2005) die zentrale Rolle der Mechanismen freier Radikale bei der Karzinogenese und dem oxidativen Stress des Tabakrauchs nachgewiesen.

Metaboliten von Zigarettenrauchbestandteilen können im männlichen Genitaltrakt eine Entzündungsreaktion auslösen, die zur Freisetzung von chemischen Entzündungsmediatoren führt. Diese Entzündungsmediatoren wie Interleukin (IL) - 6 und IL-8 können Leukozyten rekrutieren und aktivieren (Comhaire et al., 1999). In der Folge können aktivierte Leukozyten hohe ROS-Konzentrationen in der Samenflüssigkeit erzeugen. In vielen Arbeiten wurde berichtet, dass das Samenplasma von Rauchern hohe Konzentrationen an Markern für oxidativen Stress wie ROS und Malondialdehyd (MDA) sowie Rauchermarker wie Cotinin enthält (Hammadeh et al., 2010). Ein weiterer ursächlicher Faktor könnte die Tatsache sein, dass das Samenplasma von Rauchern geringere Mengen an Antioxidantien enthält als das von Nichtrauchern (Fraga et al., 1996).

Das Rauchen von Zigaretten ist jedoch ein allgemein anerkanntes Gesundheitsrisiko und eine der Hauptursachen für die Sterblichkeit (Colagar et al., 2007), und dennoch rauchen die Menschen weiterhin regelmäßig Zigaretten. Es gilt als eine weit verbreitete gefährliche soziale Gewohnheit und ist bei Männern häufiger anzutreffen als bei Frauen (Sepaniak et al., 2006).

Die Weltgesundheitsorganisation (1999) hat berichtet, dass etwa ein Drittel der Weltbevölkerung, die älter als 15 Jahre ist, raucht (Agarwal et al., 2003; Kunzle et al., 2003). Die höhere Prävalenz des Rauchens ist bei jungen Männern während der Fruchtbarkeitsjahre zu beobachten, und 46 % der weltweiten Raucher sind in der Altersgruppe der 20- bis 39-Jährigen (Agarwal & Said, 2006).

Darüber hinaus ist Zigarettenrauchen ein Grund für viele schädliche Auswirkungen auf die Samenqualität, insbesondere eine Verringerung der Beweglichkeit der Spermien und eine Zunahme der Anzahl abnormaler Spermienformen (Hammadeh et al., 2010) sowie eine Verringerung der Befruchtungsfähigkeit der Spermien (Zitzmann et al., 2003).

Zigarettenrauchen wird in der Tat mit erhöhten ROS-Werten im Samenplasma in Verbindung gebracht (Sepaniak et al., 2006). Das Samenplasma männlicher Raucher kann als toxische Umgebung für Spermien angesehen werden. Es wurde auch ein Zusammenhang zwischen Zigarettenrauchen und der Beeinträchtigung der Spermienqualität festgestellt (Sofikitis et al., 2000). Mehrere Studien haben gezeigt, dass bestimmte im Zigarettenrauch enthaltene Chemikalien die männliche Fruchtbarkeit verringern können (Sepaniak et al., 2006).

Hamad et al. (2014) fanden die negative Auswirkung (oxidativer Stress) des Rauchens auf die letzte Phase der Spermatogenese, in der ein Austausch zwischen Histonen und Protaminen stattfindet, was darauf hindeutet, dass Rauchen ein Grund für die Unterexpression von Protaminen sein könnte, die mit einem hohen Verhältnis von Histonen zu Protaminen endet.

Es wurde ein signifikanter negativer Zusammenhang zwischen der Dauer des Rauchens und der Befruchtungsrate bei IVF-Verfahren festgestellt. Die Beseitigung des Faktors Rauchen würde dazu beitragen, die Fruchtbarkeit und die ART-Ergebnisse zu verbessern (Crha et al., 2003). Da Rauchen in der Vergangenheit mit hohen OS-Konzentrationen in Verbindung gebracht wird, kann bei unfruchtbaren Frauen, die rauchen, die Einnahme von In-vivo-Antioxidantien empfohlen werden (Paszkowski et al., 2002).

Darüber hinaus kann sich das Rauchen negativ auf die Nachkommen der Raucherinnen auswirken und zu einer schlechten Qualität der Embryonen oder zur Entwicklung von Krebserkrankungen bei Kindern führen (Sepaniak et al., 2006). Es wird vermutet, dass Rauchen eine erhöhte Produktion von aus Leukozyten stammenden reaktiven Sauerstoffspezies verursacht, die negative Auswirkungen auf reife Spermien haben (Potts et al., 1999).

Es ist erwiesen, dass Unfruchtbarkeit, Schwangerschaftskomplikationen, Schädigung des sich entwickelnden Embryos, höhere Verlustraten des Fötus, vermindertes Wachstum des Fötus, Frühgeburt und Fehlgeburt die Folgen des mütterlichen Rauchens sind (Agarwal et al., 2012; Huang et al., 2011; Kumar et al., 2011). Da Zigarettenrauch vielen toxische Chemikalien und Prooxidantien enthält, löst er die Produktion von ROS aus, was zu oxidativem Stress in der Mikroumgebung der Follikel führt (Combelle et al., 2009).

Mehrere Studien gehen davon aus, dass physiologische Bereiche der ROS-Konzentration in der Follikelflüssigkeit das Ergebnis eines Gleichgewichts zwischen prooxidativen Systemen und Fängern sind und für eine normale Entwicklung der Eizelle notwendig sind (Machtinger et al., 2013).

2.8 Malondialdehyd und Unfruchtbarkeit

Die Auswirkungen von ROS auf das Fortpflanzungspotenzial von Männern sind weltweit Gegenstand umfangreicher Forschungsarbeiten (Wang et al., 2003; Baker und Aitken et al., 2005; Nallella et al., 2005). Über das Gleichgewicht zwischen Oxidations- und Antioxidationsmitteln in der menschlichen Follikelumgebung und über die möglichen Folgen für das weibliche Fortpflanzungssystem liegen jedoch nur wenige Informationen vor (Oyawoye et al., 2003; Pasqualotto et al., 2004; Agarwal et al., 2005).

Eine Hyposauerstoffversorgung der präovulatorischen Follikel wird, wie bereits mehrfach beschrieben, mit einer hohen Häufigkeit von Zytoplasmadefekten der Eizellen, beeinträchtigter Spaltung und Anomalien der Chromosomentrennung in Verbindung gebracht (Van Blerkom et al., 1997).

Malondialdehyd ist eines der Endprodukte der Lipidperoxidation, und da es ein stabiles Produkt ist, kann es als kumulatives Maß für die Lipidperoxidation verwendet werden (Halliwell, 1989). Die Lipidperoxidation wird weitgehend durch das Vorhandensein eines Nebenprodukts, MDA, dargestellt.

Der am häufigsten verwendete Test weist das Vorhandensein von MDA nach, was darauf hindeutet, dass eine Lipidperoxidation als Folge von übermäßigem oxidativem Stress stattgefunden hat (Hosen et al., 2015; Moazamian et al., 2015).

Peroxidierte Lipide können bei ihrer Zersetzung Produkte wie Malondialdehyd (MDA) erzeugen und als Fremdkörper erkannt werden, was eine antigene Reaktion und damit die Bildung von Antikörpern auslöst. Dieser Prozess kann zu einer oxidativen Schädigung der roten Blutkörperchen sowie der Endometrium- und Peritonealzellen führen, was wiederum die Rekrutierung und Aktivierung weiterer mononukleärer Phagozyten stimulieren kann, wodurch die oxidative Schädigung der Beckenhöhle fortgesetzt wird (Van Langendonck et al., 2002).

Beim Menschen beeinflusst MDA viele physiologische Mechanismen der Körpersysteme, außerdem interagiert MDA mit vielen Biomolekülen, wie Proteinen und DNA, und ist daher als Biomarker für Pathogenität besonders nützlich (Del Rio et al., 2005).

In einer von Murri et al. durchgeführten Meta-Analyse wurde gezeigt, dass die Homocystein-, Malondialdehyd- (MDA) und asymmetrischen Dimethylarginin- (ADMA) Werte bei Frauen mit PCOS erhöht sind (Murri et al., 2013). Terminale Wehen induzieren eine erhöhte Lipidperoxidation, was durch erhöhte Werte des Biomarkers Malondialdehyd belegt wird (Mocatta et al., 2004).

2.9 weitere Einflussfaktoren auf die Ergebnisse der ART

2.9.1 Zusammenhang zwischen Alter und Fertilität

Das Alter der Frau ist ein weiterer wichtiger Faktor, der das Ergebnis beeinflussen kann. Patanayak et al. (2008) untersuchten in einer retrospektiven Studie (156 frische IVF/ICSI-Zyklen mit Ovarialstimulation nach langem Protokoll) die Auswirkungen des Alters (<35 Jahre, 35-40 Jahre und > 40 Jahre) und der Embryoqualität auf das IVF/ICSI-Ergebnis. Sie kamen zu dem Schluss, dass das zunehmende Alter einen Einfluss auf die Schwangerschaftsrate hat. Die Schwangerschaftsrate wird auch durch die Anzahl der Embryonen guter Qualität beeinflusst. Wenn eine ältere Frau eine gute Anzahl von Embryonen guter Qualität produziert, ist die Schwangerschaftsrate fast genauso hoch wie bei jungen Frauen.

Mit zunehmendem Alter nimmt die Fruchtbarkeit von Frauen ab (Speroff, 1994; Dicker et al., 1991). Die meisten Frauen erreichen die Menopause mit Anfang fünfzig, und biologische Unfruchtbarkeit tritt etwa 10-12 Jahre vor der Menopause auf (London 1996). Es gibt jedoch keine allgemeingültige Definition des fortgeschrittenen reproduktiven Alters von Frauen, zum Teil deshalb, weil die Auswirkungen des zunehmenden Alters als Kontinuum und nicht als Schwelleneffekt auftreten und die abnehmende Fruchtbarkeit ein individuelles Ereignis ist, das sich bei jeder Frau unterscheidet (Lass et al., 1998).

Tan et al. (2014) wies darauf hin, dass bei Frauen im Alter von ≥ 45 Jahren keine klinischen Schwangerschaften gemeldet wurden. Außerdem hatten Frauen im Alter von < 30 Jahren die höchsten Mehrlingsschwangerschaftsraten (39,5 %), und es wurde festgestellt, dass das Alter einen signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit von Mehrlingsschwangerschaften hat ($\chi^2(5) = 42,3$, $p < 0,001$). Bei Frauen im Alter von < 30 Jahren war die Wahrscheinlichkeit einer Mehrlingsschwangerschaft 1,4-mal höher als bei Frauen im Alter von 30-35 Jahren, während bei Frauen im Alter von 30-35 Jahren die Wahrscheinlichkeit einer Mehrlingsschwangerschaft 1,9-mal höher war als bei Frauen im Alter von 36-37 Jahren. Das Alter hatte auch einen signifikanten Einfluss auf die Häufigkeit von Fehlgeburten ($\chi^2(5) = 88,0$, $p < 0,001$). Die kumulativen Spontanschwangerschaftsraten beginnen im Alter von 35-39 Jahren zu sinken und nähern sich bald nach 45 Jahren dem Nullpunkt (Cetinkaya et al., 2013)

Warshaviak et al. (2019) führten eine Studie durch, um die morphokinetischen Parameter der Präimplantationsentwicklung zwischen Embryonen von Frauen im fortgeschrittenen mütterlichen Alter (AMA, n=495 Embryonen) und jungen Frauen (n=653 Embryonen) unter Verwendung des Zeitraffermikroskops zu vergleichen, In-vitro-Fertilisation. Auch bei den Spaltzeiten wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den AMA-Embryonen und den Kontroll-Embryonen festgestellt. Allerdings scheinen die älteren Embryonen anfälliger für einen Entwicklungsstillstand zu sein (ein

höherer Prozentsatz der Embryonen älterer Frauen kam bei 4-7 Zellen zum Stillstand, was dazu führte, dass weniger Embryonen das 8-Zell-Stadium erreichten (66 % gegenüber 72 %), obwohl dieser Unterschied zumindest während der ersten drei Tage der Entwicklung keine Signifikanz erreichte ($p > 0,05$).

Es ist auch bekannt, dass die Inzidenz chromosomaler Aneuploidie mit dem Alter der Mutter zunimmt, wobei bis zu 70-80 % der Embryonen von Frauen im Alter von 38-42 Jahren Chromosomenanomalien aufweisen (Munné et al., 2007)

Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit den in der Literatur berichteten Lebendgeburtenraten (Bereich 2,0 %-7,0 %) für Frauen im Alter von 40 Jahren und darüber.

2.9.2 Zusammenhang zwischen Body Mass Index und Fertilität

Die WHO-Klassifizierung des BMI (2016) wird häufig herangezogen und bietet eine Standardisierung für den Vergleich von Forschungsergebnissen. Ein dokumentierter BMI von 18,5-24,9 kg/m² gilt als normal und gesund und ist der bevorzugte Bereich. Bei einem BMI von 25-29,9 kg/m² spricht man von Übergewicht und bei einem BMI ≥ 30 kg/m² von Fettleibigkeit. Der letztgenannte Bereich wird weiter unterteilt in Klasse 1 (30,0-34,9 kg/m²), Klasse 2 (35,0-39,9 kg/m²) und Klasse 3 ($\geq 40,0$ kg/m²).

In vielen europäischen Ländern ist mehr als die Hälfte der Frauen im gebärfähigen Alter entweder übergewichtig (Body-Mass-Index (BMI) 25-29,9 kg/m²) oder fettleibig (BMI ≥ 30 kg/m²) (International Obesity Task Force, 2002; Koning et al., 2010).

Es ist bekannt, dass Frauen mit einem erhöhten BMI aufgrund von Störungen der Hypothalamus-Hypophysen-Achse, Veränderungen des Menstruationszyklus und Anovulation sowie psychologischen und sozialen Faktoren ein dreifach höheres Risiko für Unfruchtbarkeit haben (Van der Steeg et al., 2008; Brewer und Balen, 2010).

Der Zusammenhang zwischen Adipositas und Fehlgeburten wurde in einer Reihe von Studien sowohl in der Allgemeinbevölkerung als auch bei Frauen, die sich einer assistierten Reproduktionstechnik (ART) unterziehen, festgestellt (Fedorcsak et al., 2004; Lashen et al., 1999).

Es gibt widersprüchliche Belege für die Auswirkungen eines erhöhten Body-Mass-Index (BMI) auf das Ergebnis der assistierten Reproduktionstechnologie. Insbesondere gibt es keine ausreichenden Belege für die Auswirkungen des BMI auf die Lebendgeburtenrate.

Rittenberg et al, (2011) führten eine aktuelle systematische Überprüfung der vorhandenen Literatur durch, um die Auswirkungen des BMI auf das Schwangerschaftsergebnis nach einer IVF-Behandlung

zu bewerten und, falls möglich, die Auswirkungen von Übergewicht ($\text{BMI} \geq 25$ - $29,9 \text{ kg/m}^2$) und Adipositas ($\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$) auf das Ergebnis der IVF-Behandlung zu bestimmen. Die Ergebnisse zeigten, dass Frauen mit Übergewicht oder Adipositas ($\text{BMI} \geq 25$) im Vergleich zu Frauen mit einem $\text{BMI} < 25$ nach der Behandlung eine signifikant niedrigere klinische Schwangerschafts- ($\text{RR} = 0,90$, $P < 0,0001$) und Lebendgeburtsrate ($\text{RR} = 0,84$, $P = 0,0002$) sowie eine signifikant höhere Fehlgeburtsrate ($\text{RR} = 1,31$, $P < 0,0001$) aufwiesen. Eine Untergruppenanalyse übergewichtiger Frauen ($\text{BMI} \geq 25$ - $29,9$) ergab niedrigere klinische Schwangerschafts- ($\text{RR} = 0,91$, $P = 0,0003$) und Lebendgeburtenraten ($\text{RR} = 0,91$, $P = 0,01$) und eine höhere Fehlgeburtenrate ($\text{RR} = 1,24$, $P < 0,00001$) im Vergleich zu Frauen mit Normalgewicht ($\text{BMI} < 25$). Sie kommen zu dem Schluss, dass ein erhöhter BMI bei Frauen, die sich einer IVF/ICSI-Behandlung unterziehen, mit ungünstigen Schwangerschaftsergebnissen, einschließlich niedrigerer Lebendgeburtenraten, verbunden ist. Dieser Effekt ist sowohl bei übergewichtigen als auch bei fettleibigen Frauen zu beobachten.

Ein erhöhter BMI wirkt sich auf die reproduktive Gesundheit in der prä- und postembryologischen Entwicklungsphase aus und beeinträchtigt die Qualität der Eizellen und das endometriale Umfeld (Rittenberg et al., 2011). Legge et al. (2014) führten eine retrospektive Kohortenstudie mit 752 Frauen durch, die sich zwischen Januar 2007 und Mai 2011 insgesamt 951 IVF- oder IVF-ICSI-Zyklen unterzogen. Sie untersuchten die Auswirkungen des Body-Mass-Index auf die erforderliche Gonadotropin-Dosis für die Stimulation der Eierstöcke sowie andere klinische Ergebnisse bei Frauen, die sich einer In-vitro-Fertilisation unterzogen. Übergewichtige Frauen benötigten keine signifikant höheren Gonadotropin-Dosen für die Stimulation der Eierstöcke als normalgewichtige Frauen. Außerdem hatte die weibliche Adipositas keinen signifikanten Einfluss auf die klinischen Ergebnisse der IVF-Behandlung. In Anbetracht der widersprüchlichen Ergebnisse bestehender Studien bleibt die Auswirkung der mütterlichen Adipositas auf die IVF-Ergebnisse jedoch unklar.

Eine aktuelle Metaanalyse und systematische Übersichtsarbeit von Best et al. (Best et al., 2017) hat gezeigt, dass eine Gewichtsabnahme durch Diät und Bewegung mit einer verbesserten Chance auf eine Schwangerschaft verbunden ist, mit einem Trend zu einer verbesserten Lebendgeburtsrate. Auch der Eisprung und die Unregelmäßigkeit der Menstruation werden begünstigt. Derzeit scheint es keinen signifikanten Unterschied zwischen Interventionen zur Gewichtsabnahme und Kontrollinterventionen hinsichtlich der Fehlgeburten- und IVF-Konzeptionsraten zu geben.

Supramaniam et al. (2018) beleuchten in einer systematischen Übersichtsarbeit und Metaanalyse ($n=49$) die Auswirkungen eines übergewichtigen oder fettleibigen weiblichen Partners auf die Ergebnisse von Fertilitätsbehandlungen, insbesondere mit Fokus auf IVF. Hand bestätigte, dass Frauen, die übergewichtig oder fettleibig sind, nachweislich eine geringere Wahrscheinlichkeit haben, einen IVF-Zyklus mit einer Lebendgeburt abzuschließen, was eine klare Beschreibung der schlechten reproduktiven Ergebnisse bei Frauen mit einem $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ist. Außerdem ist die

Wahrscheinlichkeit größer, dass sie während einer Fruchtbarkeitsbehandlung frühe Fehlgeburten erleiden.

Chen et al, (2021) führten eine Studie (n= 2569 chinesische Frauen) durch, um die Auswirkungen des Body-Mass-Index (BMI) auf die Erfolgsrate und die pränatalen Ergebnisse des Transfers frischer Embryonen bei Frauen zu untersuchen, die sich zum ersten Mal einer Behandlung mit In-vitro-Fertilisation/intrazytoplasmatischer Spermieninjektion (IVF/ICSI) unterzogen, und stellten fest, dass der BMI nicht mit den IVF/ICSI-Schwangerschaftsergebnissen einschließlich der hCG-positiven Rate assoziiert war: klinische Schwangerschaftsrate, Implantationsrate, Eileiterschwangerschaftsrate, anhaltende Schwangerschaftsrate, frühe Fehlgeburtenrate und Lebendgeburtsrate. Der Anteil der Kaiserschnitte stieg jedoch mit dem BMI.

2.10 Eigene Fragestellung und Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Dissertation ist es, anhand der Proben (Serum und Follikelflüssigkeit) und der Bestimmung von Bisphenol A, Malondialdehyd und reaktiver Sauerstoffspezies in diesen Proben, Erkenntnisse zu erlangen, die in Bezug auf das Outcome der ICSI Therapie von Bedeutung sind. Hierzu werden die Analysen der einzelnen Bestimmungen von BPA, MDA und ROS zueinander in Korrelation gesetzt um gegebenenfalls beurteilen zu können, welche Auswirkungen die verschiedenen Konzentrationen auf die Erfolgchancen der Kinderwunschbehandlung und die Fertilität unserer Patientinnen haben.

1- Die Beziehung zwischen BPA, MDA-, ROS- im Serum und FF und dem Schwangerschaftsergebnis von Patientinnen, die sich einer ICSI-Therapie unterziehen

2- Die Beziehung zwischen ROS und Nicotin im Serum und FF von Patientinnen, die schwanger werden, und solchen, die nicht schwanger werden.

3- Der Zusammenhang zwischen den BPA-, MDA- und ROS-Werten in Serum und FF, der Ätiologie der Unfruchtbarkeit und der Schwangerschaft.

4- Der Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen und den BPA-, MDA- und ROS-Werten im Serum und in der Follikelflüssigkeit und der Schwangerschaft.

5- Der Zusammenhang zwischen dem Body-Mass-Index (BMI) der Patientinnen und BPA, MDA und ROS im Serum und in der Follikelflüssigkeit und der Schwangerschaft.

6- Zusammenhang zwischen kontrollierter ovarieller Hyperstimulation, Alter der Patientinnen, BMI der Patientinnen und Schwangerschaft.

3. Material und Methodik

In dieser Studie wurden 86 Paare eingeschlossen, die sich im Rahmen einer Kinderwunschbehandlung einer intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) an der Frauenklinik der Universität Sohag in Ägypten unterzogen. Die Frauen wurden nach Alter in drei Gruppen eingeteilt, wobei die erste Altersgruppe 18–30 Jahre alt war (n = 21), die zweite Altersgruppe 30–35 Jahre alt war (n = 36 Patientinnen) und der dritten Altersgruppe >35 (n=29) 29 Patienten zugeordnet werden konnten.

Bezüglich der Sterilitätsursache wurden die Patientinnen in 4 Gruppen eingeteilt: in die erste Gruppe (G.1; n = 10) Patientinnen mit bekannter Endometriose, in die zweite Gruppe Patientinnen mit bekannter andrologischer Ursache (G.2; n = 17) und in eine dritte Gruppe (G.3; n = 25) die Patientinnen mit pathologischem Menstruationszyklus. Die vierte Gruppe bilden die Patientinnen mit ungeklärter Ursache (idiopathisch) (n = 21).

Darüber hinaus wurden die Patienten basierend auf dem Body-Mass-Index (BMI) in 4 Gruppen eingeteilt: Untergewicht (n=4), Normalgewicht (50), Übergewicht (n=19) und Fettleibigkeit (n=4).

Des Weiteren wurden die Patientinnen gemäß dem Protokoll zur kontrollierten ovariellen Hyperstimulation (COH) in drei Gruppen eingeteilt. Menschliches menopausales Gonadotropin (HMG, Gruppe 1) wurde nur bei 3 Patientinnen verwendet. Rekombinantes FSH wurde bei 34 Patienten verwendet und ein gemischtes Stimulationsprotokoll (n = 47) wurde bei 47 Patientinnen durchgeführt. Nach der Behandlung wurden die Patientinnen in zwei Gruppen schwanger (n=35) und nicht schwanger (n=51) aufgeteilt.

Die Kontrolle der ovariellen Hyperstimulation (COH), Patientennachsorge und Probenentnahme erfolgte folgendermaßen: Zur Stimulation der Eierstöcke wurde ein langes GnRH-Agonisten-Protokoll verwendet. Die Gabe des GnRH - Agonist (Leuprorelin; TAP Pharmaceuticals) erfolgte am 21. Zyklustag des vorherigen Zyklus (21.Tag nach Einsetzen der Menstruation). Die Stimulation mit Gonadotropin wurde mit Gonal-F (Gonal-F, Merck-Serono, Deutschland) ab dem 2. Tag des Menstruationszyklus begonnen. Darauf erhielten die Patientinnen 10.000 IE HCG Humanes Choriongonadotropin (hCG, Pregnel) und 36 Stunden nach Verabreichung von HCG eine transvaginale, ultraschallgesteuerte Follikelpunktion sowie eine Blutentnahme. Das Blut wurde während der Eizellentnahme abgenommen, zentrifugiert und das Serum aus diesem Blut wurde bei -80° C aufbewahrt.

Nach der Entnahme der Oozyten aus der Follikelflüssigkeit wurden etwa 3,0 – 8,0 ml Follikelflüssigkeit in sterile konische Röhrchen (BD Falcon, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) überführt und bei 250 x g für 10 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Dann wurde der blutfreie Überstand aliquotiert

und bis zur weiteren Auswertung bei -80°C gelagert. Das intrazytoplasmatische Spermieninjektionsverfahren (ICSI) wurde am selben Tag durchgeführt.

Serum- und Follikelflüssigkeitsproben wurden aufgetaut und sofort zur Bestimmung der Lipidperoxidation (LPO) unter Verwendung einer modifizierten Thiobarbitursäure (TBA) gemäß dem Verfahren von Hammadeh et al. (2010) verwendet und die Ergebnisse werden als Malondialdehyd, MDA in nmol pro Liter angegeben.

Die Bisphenol A Konzentration im Serum und in der Follikelflüssigkeit wird mit einem hochempfindlichen Analyseverfahren bestimmt. Das Ecologiena® Supersensitive BPA ELISA KIT wurde für die Messung der Bisphenol A Spiegel verwendet.

Die Konzentration von ROS wurde durch einen kolorimetrischen Assay zur quantitativen Bestimmung von Peroxiden in EDTA-Plasma, Serum und anderen biologischen Flüssigkeiten unter Verwendung des ELISA-Kits (Oxy Stat; Kat.-Nr. BI-5007 Biomedical Medicine product GmbH & Co KG, Wien, Österreich).

3.1 Bisphenol (BPA) Bestimmung

In den Vorliegenden Untersuchungen wurde die BPA Konzentration aus dem Serum und aus der Follikelflüssigkeit ausgewählter Probanden mittels eines hoch sensitiven Analyseverfahren ermittelt.

Das Kit-Prinzip beruht auf einer kompetitiven Reaktion. Der Test basiert auf der Erkennung von BPA durch spezifische monoklonale Antikörper. In der Probe vorhandenes BPA und ein BPA-Enzym-Konjugat (d. h. BPA, markiert mit einem färbenden Enzym: HRP) werden vorgemischt und in jede Vertiefung einer Mikroplatte gegeben und um eine begrenzte Anzahl von Bindungsstellen spezifischer Antikörper, die auf der Oberfläche immobilisiert sind, konkurrieren gelassen. Wenn die BPA-Konzentration relativ zum Enzymkonjugat erhöht ist, bindet das BPA überwiegend den Antikörper und umgekehrt. Darauf folgt die chromogene Reaktion. Ungebundenes BPA und überschüssige BPA-Enzym-Konjugate werden ausgewaschen. Das Vorhandensein von BPA wird durch Zugabe eines chromogenen Substrats namens TMB nachgewiesen. Das enzymmarkierte BPA, das an den BPA-Antikörper in der Platte gebunden ist, katalysiert die Umwandlung des Substrats in ein farbiges Produkt. Nach einer Inkubationszeit wird die Reaktion durch Zugabe einer verdünnten Säure gestoppt. Je höher beispielsweise die BPA-Konzentration in einer Probe ist, desto weniger Antigen-Enzym-Konjugat wird an die Antikörperbindungsstellen in einer Mikroplattenvertiefung gebunden, wodurch eine hellere Farbe, d. h. eine geringere Extinktion, erzeugt wird. Im Anschluß erfolgt die quantitative Analyse. Die Standardkurve, eine aus bekannten Konzentrationen von BPA-Standards erhaltene Dosis-Wirkungs-

Kurve, wird aus der Extinktion bei 450 nm bestimmt. Die BPA-Konzentration in jeder Probe wird durch Interpolation unter Verwendung der aus der Standardkurve erhaltenen Extinktionsintensität genau berechnet.

3.2 Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) Bestimmung

Die ROS Konzentration wurde durch einen kolorimetrischen Assay zur quantitativen Bestimmung von Peroxiden in EDTA-Plasma, Serum und anderen biologischen Flüssigkeiten gemessen. (ELISA-Kit, Oxy Stat; Cat. Nr. BI-5007 Biomedica Medicine product GmbH & Co KG, Wien, Österreich).

Prinzip des Assays: Die Peroxidkonzentration wird durch die Reaktion von Peroxiden mit Peroxidase bestimmt und anschließend eine Farbreaktion mit TMB (3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidin) als Substrat hergestellt. Nach Zugabe der Stopplösung wurde die gefärbte Flüssigkeit photometrisch bei 450nm gemessen. Zur Berechnung der Konzentration wurde ein Kalibrator für die zirkulierenden biologischen Peroxide in der Probe verwendet (Einpunktkalibrator).

Mikrotiterplattenformat mit 12 x 8 Vertiefungen (96 Tests pro Kit).

Assay-Protokoll

Nach den Richtlinien des Herstellers:

- 1–10 µl jeder Kontrolle, Kalibrator und Probe wurden in die jeweiligen Vertiefungen gegeben
- 2–100 µl Lösung A (Probenpuffer) wurden zu jeder Vertiefung gegeben und gemischt.
- 3- Die Extinktion wurde mit einem ELISA-Reader bei 450 nm (OD1) bestimmt.
- 4- Dann 100 µl der frisch zubereiteten ABC-Reaktionsmischung (5 ml Lösung A + 100 µl Lösung B (Reaktionspuffer) + 5 µl Lösung C (Enzymlösung)) wurden zu jeder Vertiefung gegeben und gemischt.
- 5- Platte wurde dann für 15 Minuten bei 37°C° inkubiert
- 6–100 µl Lösung D (Stopplösung) wurden zu jeder Vertiefung gegeben und gemischt.
- 7- Die Extinktion wurde mit einem ELISA-Reader bei 450 nm (OD2) bestimmt

3.3 Malondialdehyde (MDA) Bestimmung

Der Lipidperoxidationsgrad (LPO) in den biologischen Proben (Serum und Follikelflüssigkeit) wurde durch Bestimmung der MDA-Produktion unter Verwendung von modifizierter Thiobarbitursäure (TBA) nach dem Verfahren von Hammadeh et al. (2010) gemessen.

Den 250 µl Proben wurde 2 ml TBA-TCA-Extraktion zugegeben.

Reagenz [15 % (w/v) TCA, 0,375 % (w/v) TBA in 0,25 N HCl (Salzsäure)].

Die Mischung wurde dann 30 Minuten lang in einem Wasserbad auf 95°C erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die Proben bei 800 x g für 10 min bei RT zentrifugiert und die Extinktion bei 535 nm gemessen.

Die Konzentration von MDA (mM) wurde über die Gleichung der ermittelten Standardkurve berechnet.

Für die Erstellung der Standardkurve wurden die gleichen Verfahren unter Verwendung einer 250 µl - Probe angewendet.

Standardlösungen

Ein Malondialdehyd-Standard wurde durch Abwandlung der von Sangalli et al. (2003) hergestellt. Es wurde eine 10 mM Stammlösung (A) durch Mischen von 25,97 µl 1,1,3,3-Tetramethoxypropan (6 M) mit 1 M Salzsäure bei 37°C für 30 Minuten hergestellt. Diese Lösung wurde dann weiter mit Wasser (W) verdünnt, um verschiedene Arbeitsstandardlösungen wie folgt herzustellen:

- 50 µl der Stammlösung A in 5 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 100 µM (Lösung B)
- 500 µl Stammlösung B in 5 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 10 µM (Lösung C)
- 375 µl Stammlösung B in 1 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 7,5 µM (Lösung D)
- 250 µl Stammlösung B in 1 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 5 µM (Lösung E)
- 125 µl Stammlösung B in 1 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 2,5 µM (Lösung F)
- 50 µl Stammlösung B in 1 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 1,0 µM (Lösung G)
- 25 µl Stammlösung B in 1 ml W, dies ergibt eine Konzentration von 0,5 µM (Lösung H)

Die Standardlösungen wurden bei 4 °C gelagert.

3.4 Statistische Analyse

Alle Berechnungen wurden mit dem Statistikprogramm IBM SPSS Statistics Version 25 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen) durchgeführt.

Die errechneten Durchschnittswerte wurden als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) angegeben. Darüber hinaus wurden auch Median, Quartile 25/75, Minimal- und Maximalwerte aufgeführt. Wo absolute Zahlen dargestellt wurden, findet sich auch stets eine Angabe in Prozent.

Für den Vergleich von Parametern zwischen zwei Gruppen wurde der T-Test für unabhängige Stichproben angewandt, allerdings nur dann, wenn es sich um intervall-skalierte Daten handelte und von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte.

Sofern nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte oder die Daten nicht intervall-skaliert waren, kam bei Vergleich zwischen zwei Gruppen ein Testverfahren für nicht parametrische Daten zum Einsatz (Mann-Whitney-Test).

Kategoriale Daten bzw. einfache Zahlenvergleiche wurden mittels Chi-Quadrat-Test analysiert.

Für die Korrelations-Analysen wurde der Korrelationskoeffizient nach Pearson herangezogen.

Das Signifikanz-Niveau wurde auf den p-Wert von $<0,05$ festgelegt. Bei einem p-Wert zwischen 0,05 und 0,07 wurde von einer Tendenz ausgegangen.

4. Ergebnisse

4.1 Biometrische Daten

4.1.1 Alter

In die Studie waren insgesamt 86 Patientinnen eingeschlossen. Das mittlere Alter betrug $33,3 \pm 4,6$ Jahre (Median: 33,0 J.). Die Altersspanne lag zwischen 25 und 43 Jahren.

In der folgenden Säulengrafik ist die Verteilung in drei Altersgruppen dargestellt. Mit einem Anteil von 41,9 % war die mittlere Altersgruppe (30-35 Jahre) am häufigsten vertreten. Ein Drittel der Patientinnen (33,7 %) war über 35 Jahre alt (Abb.).

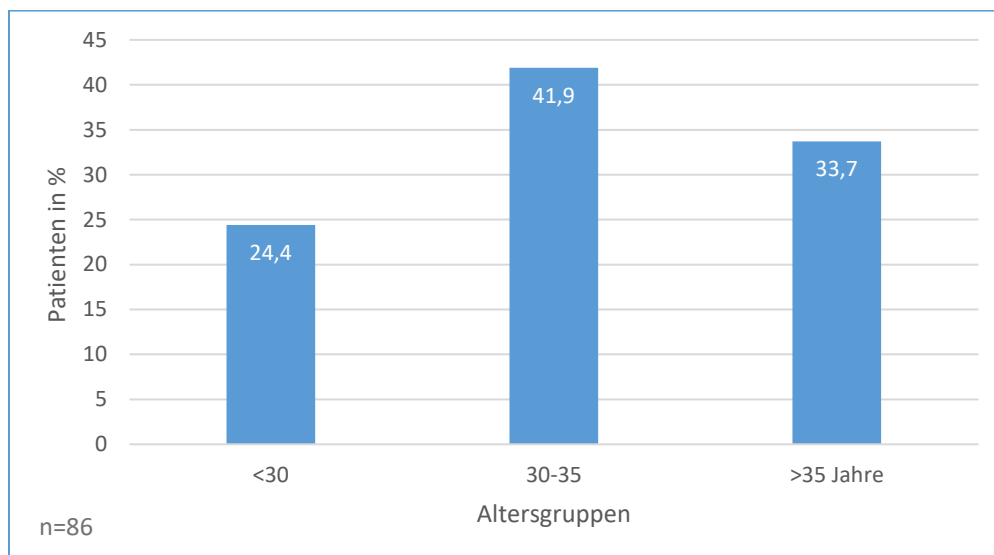


Abb. 4: Verteilung nach Altersgruppen.

4.1.2 Körpermaße

In der folgenden Tabelle sind die Körpermaße der Patientinnen dargestellt. Die durchschnittliche Größe betrug $165,7 \pm 6,2$ cm; das mittlere Gewicht lag bei $64,6 \pm 11,7$ kg. Aus diesen beiden Maßen ergab sich ein durchschnittlicher BMI (Body-Mass-Index) von $23,5 \pm 4,0$ kg/m² (Tab. 1).

Tab. 1: Größe, Gewicht und BMI (Body-Mass-Index).

	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Minimum	Maximum
Größe (cm)	80	165,7	6,2	166,5	150	180
Gewicht (kg)	80	64,6	11,7	62,0	48	100
BMI (kg/m ²)	80	23,5	4,0	22,1	17,4	35,2

SD = Standardabweichung; bei n=6 keine Angaben zu Größe und Gewicht bzw. BMI.

Knapp zwei Drittel der Patientinnen (62,5 %) wiesen einen BMI zwischen 18,5 und 24,9 kg/m² und somit ein Normalgewicht auf. Bei etwa einem Viertel (23,8 %) lag bei einem BMI zwischen 25 und 29,9 kg/m² eine Prä-Adipositas bzw. ein Übergewicht vor. Adipositas und Untergewicht spielten mit 8,8 und 5,0 % eine eher untergeordnete Rolle (Abb.).

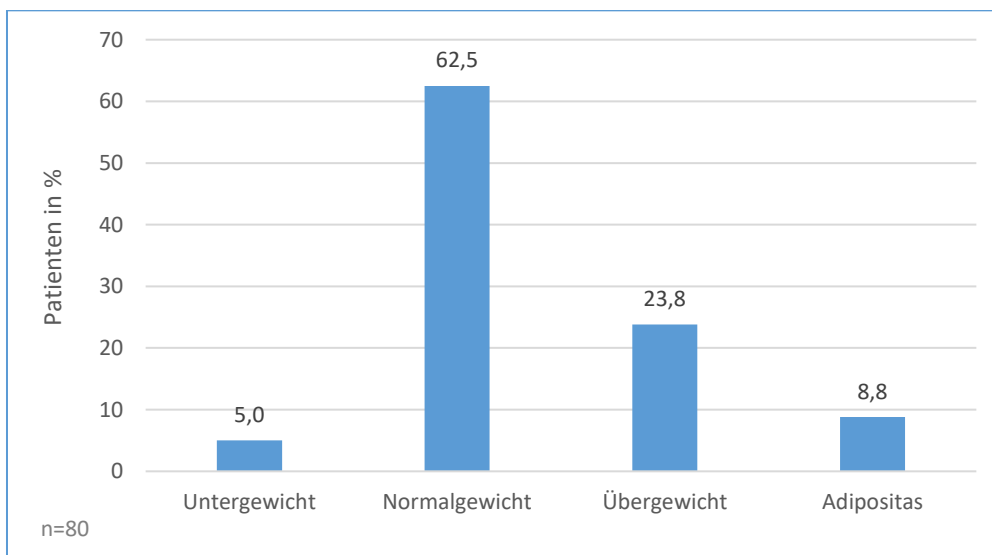


Abb. 5: Verteilung der Patientinnen in vier BMI-Gruppen.

Untergewicht = BMI bis <18,5 kg/m²; Normalgewicht = BMI 18,5 bis <25 kg/m²; Übergewicht =25 bis <30 kg/m²; Adipositas = ≥30 kg/m² (Angaben nach WHO).

4.2 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und Gravidität

4.2.1 BPA und Gravidität

Die durchschnittliche BPA-Konzentration im Serum lag bei $12,9 \pm 2,9 \mu\text{g/ml}$. Bei den Patientinnen, bei denen keine Schwangerschaft eingeleitet werden konnte (Gravida-negativ), fand sich ein etwas höherer Wert als bei den Gravida-positiven Frauen, wobei die statistische Signifikanz knapp verfehlt wurde ($13,4 \pm 3,0$ vs. $12,2 \pm 2,9 \mu\text{g/ml}$; $p=0,062$) (Tab. 2).

Tab. 2: Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration im Serum (in $\mu\text{g/ml}$) und Gravida.

BPA im Serum	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Gravida (ja)	35	12,2*	2,9	11,8	10,6/13,8	4,2-19,6
Gravida (nein)	51	13,4*	3,0	13,0	11,4/15,7	7,6-19,1
Gesamt	86	12,9	3,0	12,5	10,8/14,8	4,2-19,6

* $p=0,062$ (T-Test); SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

In der Follikel-Flüssigkeit (FF) lagen die durchschnittlichen BPA-Konzentrationen nur etwa halb so hoch wie im Serum ($5,7 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$). Wiederum waren die Werte bei den Gravida-negativen Frauen etwas höher als den Gravida-positiven, wobei auch hier die statistische Signifikanz knapp verfehlt wurde ($6,0 \pm 0,8$ vs. $5,4 \pm 0,1 \mu\text{g/ml}$; $p=0,069$) (Tab. 3).

Tab. 3: Zusammenhang zwischen BPA-Konzentration in FF (in $\mu\text{g/ml}$) und Gravida.

BPA in Follikel- Flüssigkeit (FF)	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Gravida (ja)	35	5,4*	0,1	5,4	4,5/6,4	3,2-6,8
Gravida (nein)	51	6,0*	0,8	6,0	5,3/6,4	3,5-7,3
Gesamt	86	5,7	0,9	5,8	5,0/6,4	3,2-7,3

* $p=0,069$ (T-Test); SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

4.2.2 MDA und Gravidität

Hinsichtlich der MDA-Konzentrationen ergaben sich qualitativ ähnliche Befunde wie bei den BPA-Konzentrationen. Die mittleren Konzentrationen lagen im Serum gut doppelt so hoch wie in der Follikel-Flüssigkeit; bei Gravida-negativen Frauen fanden sich etwas höhere Werte als bei den Gravida-positiven. Die Differenzen erreichen wiederum keine statistische Signifikanz; anders als in Bezug auf BPA lag nun allerdings in beiden Kompartimenten keine statistisch erkennbare Tendenz vor (Serum: $p=0,745$; Follikel: $p=0,338$) (Tab. 4 und Tab. 5).

Tab. 4: Zusammenhang zwischen MDA-Konzentration im Serum (in $\mu\text{g/ml}$) und Gravida.

MDA im Serum	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Gravida (ja)	35	6,3*	2,0	6,4*	5,1/7,3	1,5-11,6
Gravida (nein)	51	6,4*	1,9	6,2*	5,3/7,0	2,8-15,0
Gesamt	86	6,4	1,9	6,3	5,1/7,2	1,5-15,0

* $p=0,745$ (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

Tab. 5: Zusammenhang zwischen MDA-Konzentration in FF (in $\mu\text{g/ml}$) und Gravida.

MDA in Follikel-Flüssigkeit (FF)	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Gravida (ja)	35	2,3*	0,8	2,3*	1,8/3,0	0,8-4,0
Gravida (nein)	51	2,5*	1,7	2,0*	1,5/2,9	0,6-9,3
Gesamt	86	2,4	1,4	2,1	1,6/2,9	0,6-9,3

* $p=0,338$ (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

4.2.3 ROS und Gravidität

Neben MDA und BPA wurden auch die reaktiven Sauerstoff-Spezies (ROS; Reactive Oxygen Species) untersucht. Auch hierbei zeigte sich, dass im Serum mehr als doppelt so hohe Werte vorlagen wie in der Follikel-Flüssigkeit ($596,2 \pm 161,1 \mu\text{M/l}$ im Serum; $232,1 \pm 162,3 \mu\text{M/l}$ in der FF). Bei Betrachtung der

beiden Subgruppen (Gravida⁺ und Gravida⁻) fiel im Gegensatz zu MDA und BPA jedoch auf, dass nicht die Gravida-negativen Frauen höhere Werte aufwiesen. Nunmehr fanden sich bei den Gravida-positiven Frauen etwas höhere mittlere Werte in Serum und Follikel-Flüssigkeit. Allerdings erreichten auch hier die Differenzen keine statistische Signifikanz (Tab. 6 und Tab. 7).

Tab. 6: Zusammenhang zwischen ROS-Konzentration im Serum (in $\mu\text{M/l}$) und Gravida.

ROS im Serum	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Gravida (ja)	35	616,2*	166,1	621,2	516/742	200-892
Gravida (nein)	51	582,6*	159,1	598,1	450/706	304-866
Gesamt	86	596,2	161,9	614,8	478/737	199-892

*p=0,302 (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

Tab. 7: Zusammenhang zwischen ROS-Konzentration in FF (in $\mu\text{M/l}$) und Gravida.

ROS Follikel-Flüssigkeit (FF)	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Gravida (ja)	35	247,3*	164,2	298,8	105/352	20-565
Gravida (nein)	51	221,6*	161,8	213,6	51/324	0,2-573
Gesamt	86	232,1	162,3	214,0	95/340	0,2-573

*p=0,409 (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

4.2.4 ROS und Nikotin

Unter den 86 Frauen fanden sich 16, die während der Schwangerschaft geraucht hatten. Um den Einfluss von Nikotin bzw. dem Zigarettenrauchen auf die ROS zu untersuchen, wurde die Subgruppe der Raucherinnen mit jener der Nicht-Raucherinnen analysiert. Hierbei zeigte sich, dass Raucherinnen im

Mittel einen etwas höheren ROS-Wert im Serum aufwiesen, was vor allem für den medianen Wert zutraf (633,1 vs. 607,0 $\mu\text{M/l}$). Allerdings blieb jener Befund ohne statistische Signifikanz (Tab. 8).

Tab. 8: Zusammenhang zwischen ROS-Konzentration im Serum (in $\mu\text{M/l}$) und Nikotin.

Einfluss Nikotin	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Raucher	16	613,3*	179,2	633,1	471/736	304-892
Nichtraucher	70	592,3*	158,8	607,0	478/738	200-866
Gesamt	86	596,2	161,9	614,8	478/737	199-892

* $p=0,657$ (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

Bei Betrachtung der ROS in der Follikel-Flüssigkeit ergab sich ein umgekehrter Befund. Nunmehr wiesen die Nicht-Raucherinnen einen etwas höheren Median als die Raucherinnen auf (217,8 vs. 180,3 $\mu\text{M/l}$), wobei auch diese Differenz ohne statistische Signifikanz blieb (Tab. 9).

Tab. 9: Zusammenhang zwischen ROS-Konzentration in FF (in $\mu\text{g/ml}$) und Nikotin.

ROS in Follikel-Flüssigkeit (FF)	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Raucher	16	231,5*	190,1	180,3	42/349	8-565
Nichtraucher	70	232,2*	156,8	217,8	104/340	0,2-573

* $p=0,920$ (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

4.3 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und Infertilitätsursache

In der folgenden Tabelle ist die Ursache der Infertilität dargestellt. Am häufigsten fand sich ein pathologischer Zyklus (29,1 %), gefolgt von einer idiopathischen (24,4 %) und einer andrologischen Form (19,8 %). Ein Tubenfaktor spielte in diesem Kollektiv keine Rolle, da nur eine Patientin betroffen war (Tab. 10).

Tab. 10: Infertilitätsursache.

Lfd. Nr.	Bezeichnung	Anzahl	Prozent
1	Tubenfaktor	1	1,2
2	Endometriose	10	11,6
3	Andrologisch	17	19,8
4	Pathol. Zyklus	25	29,1
5	Idiopathisch	21	24,4
9	Mehrfachnennung	11	12,8
k. A.	Keine Angabe	1	1,2
Gesamt		86	100

4.3.1 BPA und Infertilitätsursache

Zwischen der Einflussgröße BPA (Biphenol A) und der Infertilitätsursache konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang aufgezeigt werden. Die mittleren BPA-Serum-Konzentrationen lagen in Bezug auf alle untersuchten Infertilitätsursachen auf ähnlichem Niveau; die Werte bewegten sich innerhalb einer Spanne von 12,0 bis 13,8 µg/ml (Mittelwerte) bzw. 11,4 und 14,1 µg/ml (Median). Es konnte lediglich eine statistische Tendenz zwischen der Infertilitätsursache mit dem höchsten und der Infertilitätsursache dem niedrigsten BPA-Durchschnittswert aufgezeigt werden (idiopathisch vs. pathol. Zyklus; $13,8 \pm 3,0$ vs. $12,0 \pm 3,4$; $p=0,076$) (Tab. 11).

Tab. 11: Zusammenhang zwischen BPA im Serum (in µg/ml) und Infertilitätsursache.

Infertilitäts-Ursache	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
2) Endometriose	10	13,0	2,7	12,4	11,2/15,2	8,6-17,5
3) Andrologisch	17	12,8	2,9	12,8	10,2/14,3	9,0-19,1
4) Pathol. Zyklus	25	12,0*	3,4	11,4	10,2/14,3	4,2-19,6
5) Idiopathisch	21	13,8*	3,0	14,1	11,2/16,4	7,6-18,3

4 vs. 5: $p=0,076$ (T-Test); keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen (T-Test); SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

Im Hinblick auf die BPA-Konzentration in der Follikel-Flüssigkeit konnte qualitativ ein ähnlicher Befund festgestellt werden. Allerdings war hier die Differenz der Durchschnittswerte zwischen idiopathischer Form und Endometriose gering ($5,6 \pm 0,8$ vs. $5,4 \pm 1,0$ µg/ml); die o.g. statistische Tendenz lag nicht mehr vor (Tab. 12).

Tab. 12: Zusammenhang zwischen BPA in Follikel-Flüss. (in µg/ml) und Infertilitätsursache.

Infertilitäts-Ursache	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
2) Endometriose	10	5,6	0,8	5,8	4,9/6,1	4,4-6,5
3) Andrologisch	17	6,0	0,9	6,3	5,2/6,7	3,9-6,8
4) Pathol. Zyklus	25	5,4	1,0	5,6	4,8/6,3	3,2-6,8
5) Idiopathisch	21	5,6	0,8	5,8	5,2/6,3	3,8-6,7

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen (T-Test); SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

4.3.2 MDA und Sterilitätsursache

Die Analyse der MDA-Werte erbrachte ebenfalls einen ähnlichen Befund. Die mittleren Serum-MDA-Werte lagen im Bereich zwischen 5,8 und 7,1 µg/ml (Mittelwerte) bzw. 5,9 und 6,9 µg/ml (Median). Eine statistisch signifikante Differenz zwischen den vier untersuchten Infertilitätsursachen konnte nicht festgestellt werden. Wiederum fand sich lediglich eine statistische Tendenz im Hinblick auf die Differenz zwischen der Infertilitätsursache mit dem höchsten und dem niedrigsten Mittelwert (Andrologische vs. idiopathische Ursache: $7,1 \pm 2,6$ vs. $5,8 \pm 1,0$; $p=0,070$) (Tab. 13).

Tab. 13: Zusammenhang zwischen MDA im Serum (in µg/ml) und Infertilitätsursache.

Infertilitäts-Ursache	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
2) Endometriose	10	5,9	2,6	5,9	4,3/7,4	1,5-11,1
3) Andrologisch	17	7,1*	2,6	6,9	5,5/8,1	2,8-15,0
4) Pathol. Zyklus	25	6,2	1,1	6,2	5,3/7,0	4,0-7,7
5) Idiopathisch	21	5,8*	1,0	5,9	5,2/6,5	3,4-7,1

*3 vs. 5: $p=0,070$ (T-Test); sonst keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen (T-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

Im Hinblick auf MDA in der Follikel-Flüssigkeit lag ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Infertilitätsursache mit dem höchsten und dem niedrigsten MDA-Mittelwert vor (pathol. Zyklus vs. andrologische Ursache: $2,7 \pm 1,6$ vs. $1,9 \pm 0,7$ µg/ml; $p=0,036$). Weitere statistisch signifikante Befunde oder Tendenzen beim Vergleich der vier untersuchten Infertilitätsursachen fanden sich jedoch nicht (Tab. 14).

Tab. 14: Zusammenhang zwischen MDA in Follikel-Flüss. (in µg/ml) und Infertilitätsursache.

Infertilitäts-Ursache	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
2) Endometriose	10	2,4	1,1	2,3	1,4/3,5	0,6-4,0
3) Andrologisch	17	1,9*	0,7	1,8	1,2/2,5	0,8-3,5
4) Pathol. Zyklus	25	2,7*	1,6	2,3	1,8/3,1	0,8-8,2
5) Idiopathisch	21	2,4	1,8	2,0	1,5/2,8	0,6-9,3

3 vs. 4: p=0,036 (Mann-Whitney-Test); sonst keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen (T-Test)

4.3.3 ROS und Infertilitätsursache

Eine ähnliche Untersuchung wie für BPA und MDA wurde auch in Bezug auf die reaktiven Sauerstoff-Spezies (ROS) durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass im Hinblick auf die vier Infertilitätsursachen weder für die mittleren ROS-Werte im Serum noch für jene in der Follikel-Flüssigkeit statistisch signifikante Unterschiede oder statistische Tendenzen vorlagen (Tab. 15 und Tab. 16).

Tab. 15: Zusammenhang zwischen ROS im Serum (in µM/l) und Infertilitätsursache.

ROS im Serum	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
2) Endometriose	10	621,4	167,3	601,2	526/741	327-892
3) Andrologisch	17	575,3	178,6	626,3	451/709	200-832
4) Pathol. Zyklus	25	619,8	166,6	645,0	496/775	304-815
5) Idiopathisch	21	606,0	143,8	613,7	489/723	349-866

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen (T-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

Tab. 16: Zusammenhang zwischen ROS in Follikel-Flüss. (in $\mu\text{M/l}$) und Infertilitätsursache.

Infertilitäts- Ursache	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
2) Endometriose	10	266,0	181,8	282,1	111/395	24-559
3) Andrologisch	17	274,1	183,0	258,5	110/408	13-573
4) Pathol. Zyklus	25	221,6	174,4	214,2	57/344	0,2-514
5) Idiopathisch	21	225,7	131,5	202,9	133/327	34-550

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Subgruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test);

SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

4.4 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und Alter

4.4.1 BPA und Alter

Das Alter hatte keinen signifikanten Einfluss auf die BPA-Konzentrationen in Serum und Follikel-Flüssigkeit. Die durchschnittlichen Werte lagen bei den drei untersuchten Altersgruppen alle auf ähnlichem Niveau bzw. bewegten sich innerhalb einer geringen Spanne zwischen 12,6 und 13,1 µg/ml (Serum) bzw. 5,5 und 5,9 µg/ml (Follikel-Flüssigkeit) (Tab. 17 und Tab. 18).

Tab. 17: Zusammenhang zwischen BPA im Serum (in µg/ml) und Alter.

Alter	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
<30 Jahre	21	13,1	2,6	13,0	11,1/15,2	8,6-17,5
30-35 Jahre	36	12,6	2,6	12,7	10,6/14,6	7,6-17,9
>35 Jahre	29	13,1	3,7	11,8	10,9/16,6	4,2-19,6

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen (T-Test);

SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

Tab. 18: Zusammenhang zwischen BPA in Follikel-Flüssigkeit (in µg/ml) und Alter.

Alter	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
<30 Jahre	21	5,9	0,9	6,2	5,2/6,5	3,8-6,8
30-35 Jahre	36	5,7	0,8	5,8	5,1/6,5	4,3-7,3
>35 Jahre	29	5,5	1,0	5,8	4,8/6,2	3,2-6,8

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen (T-Test);

SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

4.4.2 MDA und Alter

In Bezug auf MDA im Serum ergab sich qualitativ ein ähnlicher Befund wie bei BPA. Es lag kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Altersgruppen vor (Tab. 19).

Tab. 19: Zusammenhang zwischen MDA im Serum (in µg/ml) und Alter.

Alter	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
<30 Jahre	21	6,4	2,3	6,4	4,8/7,4	1,5- 11,6
30-35 Jahre	36	6,6	2,1	6,3	5,4/7,2	3,5- 15,0
>35 Jahre	29	6,0	1,4	5,9	5,0/7,0	2,8-8,9

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

Bei Betrachtung von MDA in der Follikel-Flüssigkeit ließ sich zumindest in einem Fall eine statistische Tendenz erkennen. Die durchschnittliche Konzentration lag bei den 30- bis 35-jährigen Frauen höher als bei den unter 30-jährigen ($2,7 \pm 1,5$ vs. $2,0 \pm 0,9$; $p=0,058$) (Tab. 20).

Tab. 20: Zusammenhang zwischen MDA in Follikel-Flüssigkeit (in µg/ml) und Alter.

Alter	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
1) <30 Jahre	21	2,0*	0,9	2,1	1,2/2,7	0,6-4,0
2) 30-35 Jahre	36	2,7*	1,5	2,3	1,8/3,2	0,6-9,3
3) >35 Jahre	29	2,4	1,5	2,1	1,6/2,6	0,8-8,2

1 vs. 2: $p=0,058$ (Mann-Whitney-Test); keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

4.4.3 ROS und Alter

Wie für BPA ließ sich auch für ROS kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Alter und der Konzentration in Serum und Follikel-Flüssigkeit zeigen. Wiederum lagen die mittleren Werte in allen Fällen auf ähnlichem Niveau bzw. bewegten sich innerhalb einer engen Spannweite (Tab. 21 und Tab. 22).

Tab. 21: Zusammenhang zwischen ROS im Serum (in $\mu\text{M/l}$) und Alter.

Alter	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
<30 Jahre	21	585,6	170,5	600,2	441/704	310- 892
30-35 Jahre	36	604,4	153,4	618,5	507/736	200- 866
>35 Jahre	29	593,9	170,8	636,1	474/745	289- 832

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

Tab. 22: Zusammenhang zwischen ROS in Follikel-Flüssigkeit (in $\mu\text{M/l}$) und Alter.

Alter	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
<30 Jahre	21	231,1	146,8	221,3	115/331	0,2-522
30-35 Jahre	36	252,8	172,5	231,2	120/396	20-573
>35 Jahre	29	207,1	161,7	201,9	47/320	8-565

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Altersgruppen (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

4.4.4 Korrelationen mit Alter

In Ergänzung zu den obigen Berechnungen wurde auch eine Korrelationsanalyse zur Beurteilung des Zusammenhanges zwischen Alter und Einflussgrößen (BPA, MDA, ROS in Serum und Follikel-Flüssigkeit) vorgenommen. Hierbei konnte bestätigt werden, dass kein Zusammenhang mit dem Alter vorlag. Der Korrelationskoeffizient (Pearson) ging über einen geringen Wert von 0,171 nicht hinaus (Tab. 23).

Tab. 23: Korrelationen von BPA, ROS und MDA (in Serum und Follikel-Flüssigkeit) mit Alter.

	BPA Serum	BPA FF	ROS Serum	ROS FF	MDA Serum	MDA FF
Alter	r=0,027 n.s.	r=-0,171 n.s.	r=0,002 n.s.	r=-0,049 n.s.	r=-0,056 n.s.	r=1,04 n.s.

r = Korrelationskoeffizient (Pearson); MDA = Malondialdehyd

BPA = Biphenol A; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies);

In den beiden folgenden Streudiagrammen sind exemplarisch die Ergebnisse für BPA in Serum und Follikel-Flüssigkeit noch einmal veranschaulicht. Die geringe Korrelation wird anhand der in etwa waagrecht verlaufenden Trendlinie erkennbar (Abb. 6 und Abb. 7).

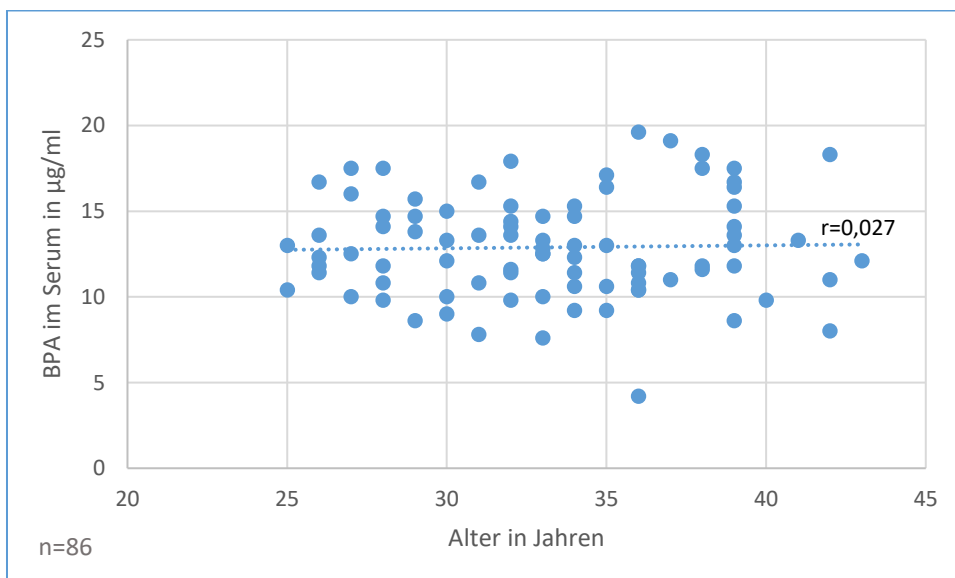


Abb. 6: Korrelation zwischen Alter und BPA im Serum.

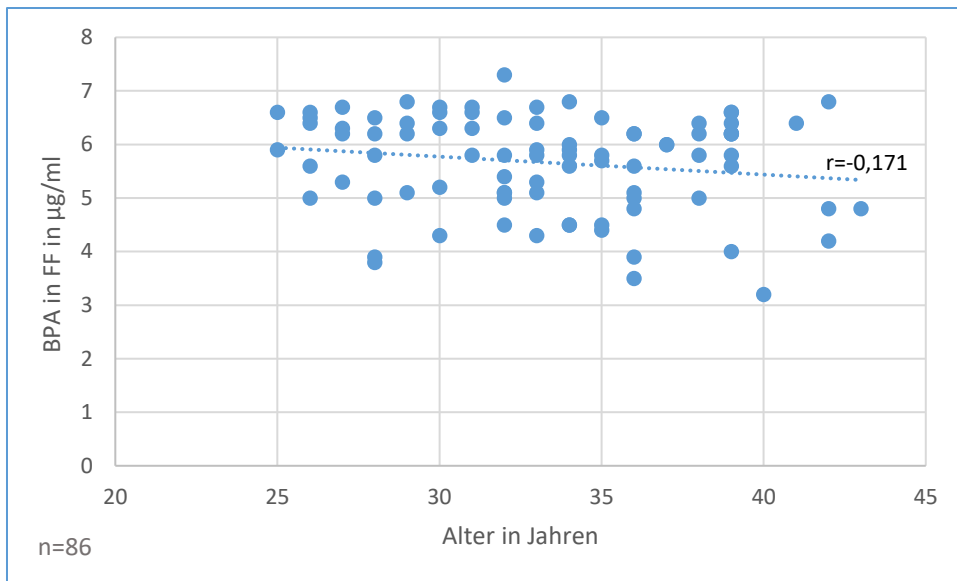


Abb. 7: Korrelation zwischen Alter und BPA in Follikel-Flüssigkeit.

4.5 Zusammenhang zwischen Einflussgrößen und BMI

4.5.1 BPA und BMI (Body Mass Index)

Zwischen dem BMI und der Konzentration von BPA in Serum und Follikel-Flüssigkeit konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden. Wiederum lagen die mittleren Werte für alle BMI-Klassen (Untergewicht bis Adipositas) auf ähnlichem Niveau bzw. bewegten sich innerhalb einer engen Spannweite (Tab. 24 und Tab. 25).

Tab. 24: Zusammenhang zwischen BPA im Serum (in µg/ml) und Body Mass Index.

BMI	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Untergewicht	4	12,6	3,7	13,2	8,7/15,8	7,8-16,0
Normalgewicht	50	13,0	3,3	12,9	10,8/15,9	4,2-19,6
Übergewicht	19	12,4	2,6	11,8	10,4/14,1	8,6-19,1
Adipositas	7	14,0	1,4	14,7	12,3/15,3	12,3-15,3

Übergewicht vs. Adipositas: $p=0,043$ (Mann-Whitney-Test); keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den BMI-Gruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

Tab. 25: Zusammenhang zwischen BPA in Follikel-Flüss. (in µg/ml) und Body Mass Index.

BMI	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Untergewicht	4	5,7	1,4	6,3	4,2/6,3	3,5-6,6
Normalgewicht	50	5,7	0,9	5,8	5,0/6,4	3,8-6,8
Übergewicht	19	5,7	0,9	6,0	5,0/6,5	3,9-7,3
Adipositas	7	5,9	0,5	5,8	5,6/6,2	5,0-6,6

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den BMI-Gruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; BPA = Biphenol A.

4.5.2 MDA und BMI (Body Mass Index)

Ein ähnliches Ergebnis wie oben lag auch für die Einflussgröße MDA vor. Tendenziell wiesen die durchschnittlichen Konzentrationen im Serum jedoch eine leicht ansteigende Tendenz erkennen. Der höchste Wert fand sich bei der Adipositas, der geringste bei Untergewicht (Tab. 26).

Tab. 26: Zusammenhang zwischen MDA im Serum (in $\mu\text{g/ml}$) und Body Mass Index.

BMI	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Untergewicht	4	5,3	1,2	6,1	4,3/6,2	3,7-6,2
Normalgewicht	50	6,3*	1,9	6,1	5,0/7,0	3,4-15,0
Übergewicht	19	6,1	2,2	6,3	4,8/7,3	1,5-11,1
Adipositas	7	7,9*	2,2	7,5	5,7/10,1	5,3-11,1

Normalgewicht vs. Adipositas: $p=0,027$ (Mann-Whitney-Test); keine weiteren statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den BMI-Gruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

Im Hinblick auf MDA in der Follikel-Flüssigkeit war die obige Tendenz jedoch nicht mehr zu beobachten (Tab. 27).

Tab. 27: Zusammenhang zwischen MDA in Follikel-Flüss. (in $\mu\text{g/ml}$) und Body Mass Index.

BMI	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Untergewicht	4	1,9	0,8	1,6	1,4/2,8	1,4-3,2
Normalgewicht	50	2,5	1,6	2,1	1,6/2,9	0,6-9,3
Übergewicht	19	2,4	1,1	2,3	1,5/3,2	0,6-4,9
Adipositas	7	2,2	1,1	2,1	1,4/3,0	0,8-4,0

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den BMI-Gruppen (T-Test und Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung; MDA = Malondialdehyd

4.5.3 ROS und BMI (Body Mass Index)

Im Hinblick auf ROS zeigte sich, dass im Serum und insbesondere in der Follikel-Flüssigkeit zwar eine relativ deutliche Tendenz vorlag, dass diese jedoch ohne statistische Signifikanz blieb. Es lag auch keine Tendenz im statistischen Sinne vor (p-Wert von mind. 0,07) (Tab. 28 und Tab. 29).

Tab. 28: Zusammenhang zwischen ROS im Serum (in $\mu\text{M/l}$) und Body Mass Index.

BMI	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Untergewicht	4	645,7	255,8	706,6	377/853	304- 866
Normalgewicht	50	590,0	140,6	608,0	481/705	289- 838
Übergewicht	19	620,6	190,8	644,3	455/801	310- 892
Adipositas	7	652,3	125,1	683,6	560/746	432- 809

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den BMI-Gruppen (T-Test);

SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

Tab. 29: Zusammenhang zwischen ROS in Follikel-Flüss. (in $\mu\text{M/l}$) und Body Mass Index.

BMI	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
Untergewicht	4	211,8	207,3	169,9	42/423	8-499
Normalgewicht	50	229,6	152,0	214,0	116/338	13-559
Übergewicht	19	253,3	177,1	265,4	106/352	0,2-573
Adipositas	7	291,3	190,9	262,0	99/522	51-550

Keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den BMI-Gruppen (T-Test);

SD = Standardabweichung; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies).

4.5.4 Korrelationen mit BMI (Body Mass Index)

In Ergänzung zu den obigen Berechnungen wurde wiederum eine Korrelationsanalyse durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass zwischen dem BMI und der MDA-Konzentration im Serum eine schwache, aber statistisch signifikante Korrelation vorlag ($r=0,230$; $p=0,040$) (Tab. 30).

Tab. 30: Korrelationen von BPA, ROS und MDA (in Serum und Follikel-Flüssigkeit) mit BMI.

	BPA Serum	BPA FF	ROS Serum	ROS FF	MDA Serum	MDA FF
BMI	$r=0,066$ n.s.	$r=0,030$ n.s.	$r=0,201$ $p=0,074$	$r=-0,093$ n.s.	$r=0,230$ $p=0,040$	$r=0,005$ n.s.

r = Korrelationskoeffizient (Pearson); BMI = Body Mass Index; BPA = Biphenol A; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies); MDA = Malondialdehyd

Das obige signifikante Ergebnis (MDA/BMI) ist im nachfolgenden Streudiagramm noch einmal veranschaulicht. Es zeigt sich, dass zwar ein gewisser Anstieg zu beobachten war, dass dieser jedoch eher flach war und die Einzelwerte eine relativ große Streuung aufwiesen (Abb. 8).

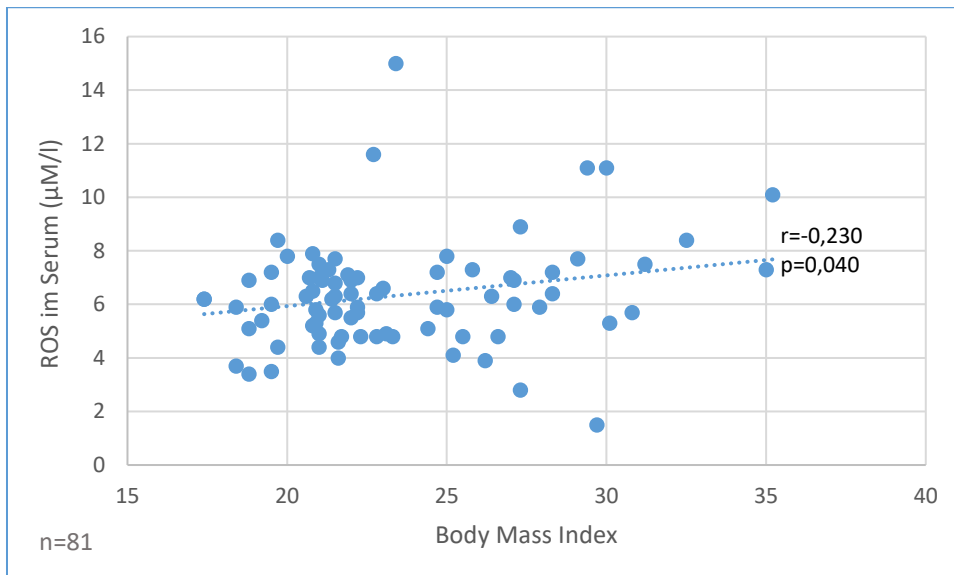


Abb. 8: Korrelation zwischen BMI und ROS im Serum.

4.6 Korrelationen zwischen den Einflussgrößen

In der folgenden Tabelle sind die Korrelationen (nach Spearman) zwischen den drei Einflussgrößen (BPA, MDA und ROS) dargestellt. Hierbei zeigte sich, dass lediglich in einem Fall ein statistisch signifikanter Befund vorlag (ROS im Serum / ROS in Follikel-Flüssigkeit: $r=0,602$; $p<0,001$). Somit lagen weder Korrelationen zwischen den drei Einflussgrößen vor, noch bestand im Hinblick auf ROS und MDA eine Korrelation zwischen jeweiliger Serum- und Follikel-Konzentration (Tab. 31).

Tab. 31: Korrelationen zwischen BPA, ROS und MDA (in Serum und Follikel-Flüssigkeit).

	BPA Serum	BPA FF	ROS Serum	ROS FF	MDA Serum
BPA Serum	-				
BPA FF	$r=-0,003$ n.s.	-			
ROS Serum	$r=0,042$ n.s.	$r=-0,059$ n.s.	-		
ROS FF	$r=0,033$ n.s.	$r=0,065$ n.s.	$r=0,602$ $p<0,001$	-	
MDA Serum	$r=-0,140$ n.s.	$r=-0,105$ n.s.	$r=0,129$ n.s.	$r=0,079$ n.s.	-
MDA FF	$r=-0,102$ n.s.	$r=-0,093$ n.s.	$r=0,050$ n.s.	$r=0,007$ n.s.	$r=-0,075$ n.s.

r = Korrelationskoeffizient (Pearson); BPA = Biphenol A; ROS = Reactive Oxygen Species (reaktive Sauerstoff-Spezies)

Im folgenden Streudiagramm ist der Zusammenhang zwischen ROS im Serum und ROS in der Follikel-Flüssigkeit grafisch dargestellt, um die oben festgestellte Korrelation zu veranschaulichen. Es bestätigte sich die weiter oben bereits gemachte Beobachtung, dass die Konzentrationen im Serum mehr als doppelt so hoch waren wie in der Follikel-Flüssigkeit. Der relativ starke Anstieg der Trendlinie spiegelt die deutliche Korrelation von $r=0,602$ wider (Abb. 9).

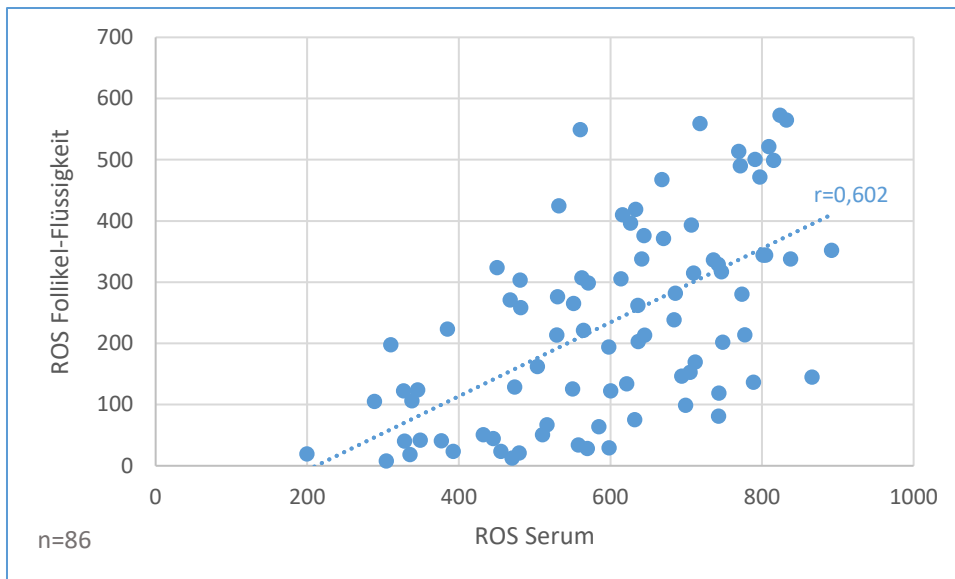


Abb. 9: Korrelation zwischen ROS in Serum und ROS in Follikel-Flüssigkeit.

4.7 Stimulationsprotokoll und Gravidität

Mit Ausnahme von zwei Patientinnen lagen in allen Fällen Angaben zum Stimulationsprotokoll vor. Von Relevanz waren lediglich die Protokolle 3 und 4, die in 40,5 und 56,0 % der Fälle zur Anwendung kamen. Protokoll 1 kam lediglich bei drei Frauen zur Anwendung, Protokoll 2 bei keiner der hier untersuchten Frauen (Tab. 32).

Tab. 32: Häufigkeitsverteilung Stimulationsprotokolle.

Protokoll	Anzahl	%	Gültige %
1) HMG	3	3,5	3,6
2) HMG + FSH	0	0,0	0,0
3) Rekombinantes FSH	34	39,5	40,5
4) Misch-Stimulation	47	54,7	56,0
Gesamt	84	97,7	100
Keine Angabe	2	2,3	
Gesamt	86	100	

In den folgenden fünf Tabellen sind in Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll dargestellt: Gewonnene Eizellen, fertilisierte Eizellen, Fertilisationsrate, Transferrate und Gravidität.

Im Hinblick auf die gewonnenen Eizellen und die fertilisierten Eizellen zeigte sich, dass die höchsten durchschnittlichen Raten mittels Protokoll 3 (rekombinantes FSH) erreicht werden konnten; die geringsten Raten lagen diesbezüglich bei Anwendung des Stimulationsprotokolls 1 vor (HMG) (Tab. 33 und Tab. 34).

Tab. 33: Gewonnene Eizellen in Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll.

Stimulations-Protokoll*	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
1	3	5,0	0,0	5,0	5,0/5,0	5-5
3	34	11,4	5,3	11,0	6,8/14,3	4-24
4	47	8,3	4,5	8,0	5,0/11,0	1-18

1 vs. 3: $p=0,014$; 1 vs. 4: $p=0,149$ (n.s.); 3 vs. 4: $p=0,012$ (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung. *1 = HMG; 3 = rekombinantes FSH; 4 = Mischstimulation.

Tab. 34: Fertilisierte Eizellen in Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll.

Stimulations-Protokoll*	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
1	3	2,3	5,8	2,0	2,0/-	2-3
3	34	5,9	4,0	5,0	3,0/9,0	0-15
4	47	4,3	3,0	4,0	2,0/5,0	1-13

1 vs. 3: $p=0,053$ (Tendenz); 1 vs. 4: $p=0,188$ (n.s.); 3 vs. 4: $p=0,046$ (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung. *1 = HMG; 3 = rekombinantes FSH; 4 = Mischstimulation.

Die Fertilisationsrate sowie die Rate der transferierten Eizellen hingegen ließen keinen Zusammenhang mit dem Stimulationsprotokoll erkennen. Die Fertilisationsrate lag bei allen Protokollen im Bereich von etwa 50 %; und bei allen drei Protokollen wurden im Mittel zwei Eizellen transferiert (Tab. 35 und Tab. 36).

Tab. 35: Fertilisationsrate in Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll.

Stimulations-Protokoll*	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
1	3	46,7	11,5	40,0	40/-	40-60
3	34	51,9	24,6	52,3	33,3/71,8	0-100
4	47	55,2	24,7	50,0	33,3/80,0	16,7-100

Keine sign. Unterschiede zwischen den Subgruppen (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung. 1 = HMG; 3 = rekombinates FSH; 4 = Mischstimulation.

Tab. 36: Transferierte Eizellen in Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll.

Stimulations-Protokoll*	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
1	3	2,0	0,0	2,0	2,0/2,0	2-2
3	34	2,0	0,8	2,0	1,0/3,0	0-3
4	47	2,1	0,7	2,0	2,0/3,0	1-3

Keine sign. Unterschiede zwischen den Subgruppen (Mann-Whitney-Test); SD = Standardabweichung. 1 = HMG; 3 = rekombinates FSH; 4 = Mischstimulation.

Mit einer Rate von 47 % wurde eine Gravidität im Zusammenhang mit Protokoll 3 erreicht (rekombinantes FSH), gefolgt von Protokoll 4 mit 36 % (Mischstimulation) und Protokoll 1 mit 33 % (HMG). Diese Reihenfolge war in Übereinstimmung mit der oben beschriebenen Zahl der gewonnenen und fertilisierten Eizellen. Allerdings waren nunmehr die Unterschiede zwischen den drei Protokollen in Bezug auf die Gravidität statistisch nicht signifikant (Tab. 37).

Tab. 37: Gravidität in Abhängigkeit vom Stimulationsprotokoll.

Stimulations-Protokoll*	Anzahl	Mittelwert	SD	Median	Perzentile 25/75	Spanne
1	3	0,33	0,6	0,0	0,0/-	0-1
3	34	0,47	0,5	0,0	0,0/1,0	0-1
4	47	0,36	0,5	0,0	0,0/1,0	0-1

Keine sign. Unterschiede zwischen den Subgruppen (Mann-Whitney- und Chi-Quadrat-Test); SD = Standardabweichung. 1 = HMG; 3 = rekombinates FSH; 4 = Mischstimulation.

Durchschnittlich wurden bei den 86 Frauen $2,1 \pm 7,1$ Eizellen transferiert (Median: 2,0). Es handelte sich hierbei im 1 bis 3 transferierte Eizellen (in einem Fall fand kein Transfer statt, da keine Eizelle befruchtet werden konnte).

Aus der folgenden Säulengrafik wird deutlich, dass die Graviditätsrate mit der Anzahl der transferierten Eizellen deutlich zunahm (Abb. 10).

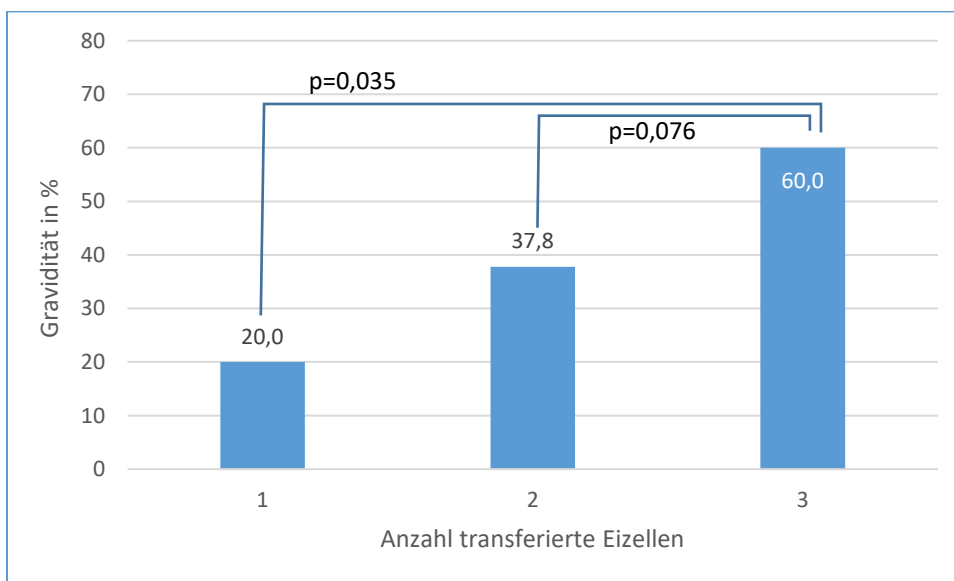


Abb. 10: Gravidität in Abhängigkeit der transferierten Eizellen.

$p=0,061$ (Chi-Quadrat-Test); 1 vs. 2: $p=0,210$; 2 vs. 3: $p=0,076$; 1 vs. 3: $p=0,035$ (Mann-Whitney-Test).

4.8 Andere Assoziationen

Bei 35 der 86 Frauen (40,7 %) konnte im Zuge der Behandlung eine Gravidität erreicht werden. Auffällig war, dass bei den Gravida-positiven Frauen im Mittel signifikant mehr Eizellen transferiert wurden als bei den Gravida-negativen ($2,3 \pm 0,6$ vs. $1,9 \pm 2,0$; $p=0,007$ im Mann-Whitney-Test).

4.8.1 Zusammenhang zwischen Alter und Fertilität

Das Alter hatte in diesem Studienkollektiv keinen erkennbaren Einfluss. Das durchschnittliche Alter der Gravida-negativen Frauen lag nur unwesentlich höher als jenes der Gravida-positiven ($33,6 \pm 5,0$ vs. $32,8 \pm 3,9$; $p=0,447$ im T-Test). Darüber hinaus lag auch keine signifikante Korrelation zwischen Alter und Fertilisationsrate vor ($r=0,138$; $p=0,206$; Korrelation nach Pearson).

Auf die Zahl der transferierten Eizellen hatte das Alter ebenfalls keinen signifikanten Einfluss (Abb.11).

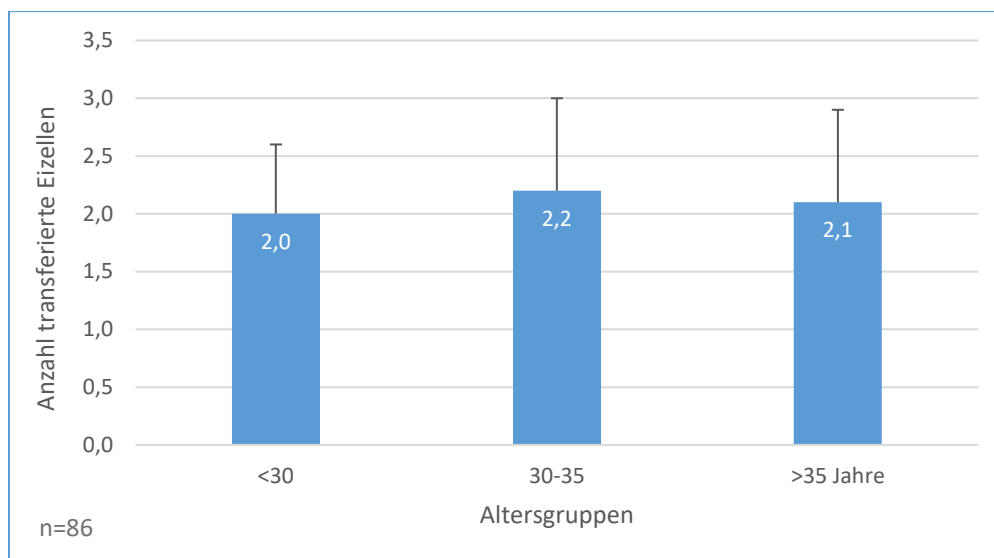


Abb.11: Zusammenhang zwischen Alter und Anzahl der transferierten Eizellen.

Keine sign. Unterschiede zwischen den Gruppen (Mann-Whitney-Test).

4.8.2 Zusammenhang zwischen BMI und Fertilität

Auch der BMI (Body Mass Index) hatte in diesem Studienkollektiv keinen erkennbaren Einfluss auf die Gravidität. Der durchschnittliche BMI der Gravida-positiven und der Gravida-negativen Frauen lag etwa auf demselben Niveau ($23,1 \pm 3,5$ vs. $23,8 \pm 4,3$; $p=0,646$ im Mann-Whitney-Test). Tendenziell lag jedoch eine schwache negative Korrelation zwischen BMI und Fertilisationsrate vor ($r=-0,203$; $p=0,071$; Korrelation nach Pearson). Dieser Zusammenhang ist in der nachfolgenden Boxplot-Grafik veranschaulicht (Abb.12).

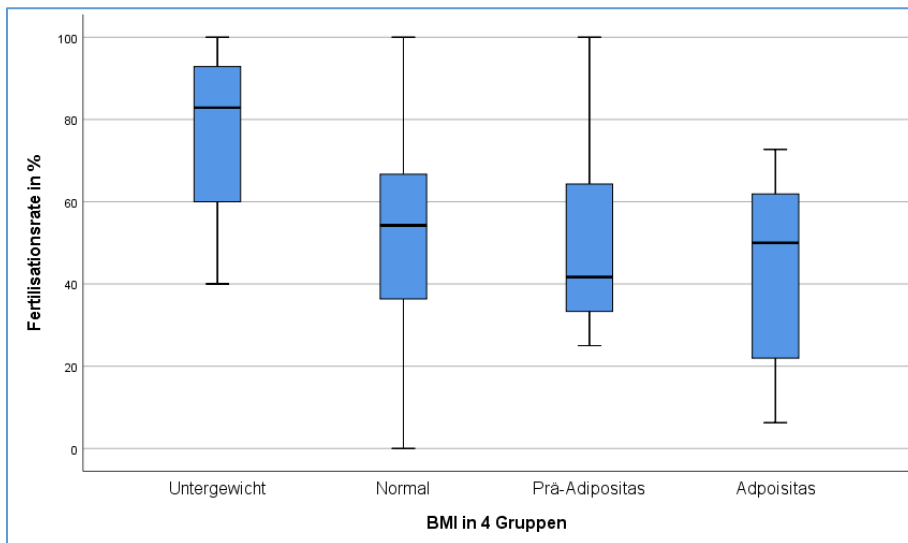


Abb.12: Zusammenhang zwischen BMI und Fertilisationsrate. Median von Untergewicht bis Adipositas: 82,9; 54,2; 41,7; 50,0 kg/m².

Auf die Zahl der transferierten Eizellen hatte der BMI in allen vier Gruppen (Mann-Whitney-Test) keinen signifikanten Einfluss (Abb.13).

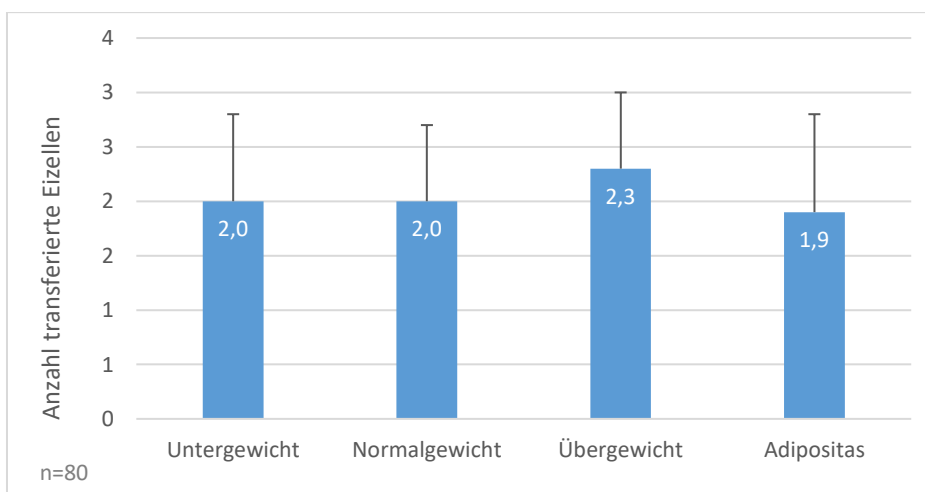


Abb.13: Zusammenhang zwischen BMI und transferierten Eizellen.

5. Diskussion

Schätzungsweise 40-50 % der Unfruchtbarkeitsprobleme sind weiblichen und etwa 30 % der Fälle sind männlichen Ursprungs. Weitere 20-25 % der Paare leiden an ungeklärter Unfruchtbarkeit (Winters und Walsh et al., 2014).

Die Zunahme der Prävalenz von Paaren, einschließlich der weiblichen Unfruchtbarkeit, weltweit wurde auch mit der Zunahme der weltweit registrierten Umweltschadstoffe in Verbindung gebracht (Petraglia et al., 2013).

Dies wird durch den Nachweis von BPA in 92 % der Urinproben amerikanischer Patienten im Rahmen der United States National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) deutlich (Pelch et al., 2019). Ähnliche Ergebnisse wurden aus anderen Industrienationen gemeldet, z. B. 90 % in Kanada und 93 % im Vereinigten Königreich (Rogers, 2021). BPA wurde von Alexander Dianin synthetisiert und ist seit 1957 im Handel erhältlich (Hoque 2019).

In den 1950er Jahren gelang es Chemikern bei Bayer in Deutschland und General Electric in den Vereinigten Staaten, das auf BPA basierende Polymer Polycarbonat zu entwickeln, das 1958 erstmals auf den Markt kam (Vogel et al., 2009). Die FDA genehmigte BPA 1963 für die Verwendung in Materialien, die mit Lebensmitteln in Berührung kommen, obwohl es keine veröffentlichten Sicherheitsinformationen gab (FDA, 2020).

Heute ist BPA nach wie vor ein Baustein für Polycarbonat-Kunststoffe und -Harze, die in vielen Verbraucherprodukten verwendet werden, darunter wiederverwendbare Lebensmittelbehälter und Epoxidharze, die zur Auskleidung von Lebensmitteln/Getränkebehältern verwendet werden (Noureddine et al., 2019). Darüber hinaus ist BPA in Hartkunststoffen, Epoxidharzen, medizinischen Geräten, Zahnversiegelungen, Babyspielzeug, Küchengeräten, Thermobonpapier und Innenbeschichtungen von Lebensmittel- und Getränkeverpackungen/Behältern weit verbreitet (Kubwaboia et al. 2009).

BPA ist ein Material, das mit Lebensmitteln in Berührung kommt, und ist daher in Haushaltsgeschirr und Lebensmittelkonserven praktisch allgegenwärtig. Epoxidharze auf BPA-Basis werden auch wegen ihrer Klebeeigenschaften häufig verwendet (Koniczna et al., 2015).

Darüber hinaus spielt BPA auch bei der Herstellung von Polycarbonat-Kunststoffen eine wichtige Rolle und ist daher in Augengläsern, optischen Geräten und medizinischen Geräten zu finden. BPA ist auch ein Zusatzstoff bei der Herstellung von Polyvinylchlorid-Kunststoffen, die in Verbrauchsgütern des Gesundheitswesens, Rohrleitungen, Drahtisolierungen und Baumaterialien breite Anwendung finden (Vogel et al., 2009; Koniczna et al., 2015).

Lebensmittel- und Getränkedosen aus Metall sind auf der Innenseite mit einer dünnen BPA-Beschichtung versehen, die unbedingt erforderlich ist, um die Korrosion der Dose und die Kontamination von Lebensmitteln zu verhindern. Darüber hinaus sind Föten und Kleinkinder BPA häufig durch transplazentare Übertragung von mütterlichem BPA und durch die Aufnahme von Muttermilch oder Säuglingsnahrung in BPA-haltigen Plastikflaschen ausgesetzt (Hoekstra und Simoneau 2013).

Das Potenzial für eine Exposition des Menschen ist groß, da Bisphenol A aus Kunststoff- und kunststoffbeschichteten Metallbehältern für Lebensmittel und Getränke sowie aus Zahnversiegelungen austritt (Takao et al. 2002; Welshons et al. 2006). Die weltweite Jahresproduktion von BPA lag 2009 bei mindestens 2,2 Millionen Tonnen, wobei die USA ein Fünftel der Gesamtmenge produzierten (Koniczna et al., 2015). Derzeit werden BPA-freie Produkte angeboten (Vogel et al., 2009), und einige Regulierungsbehörden haben ihre früheren Entscheidungen zu BPA überarbeitet. In Frankreich wurde ein vollständiges Verbot erwogen (Rochefort et al., 2011).

Die Besorgnis über die Auswirkungen von Umweltschadstoffen auf die Fortpflanzung von Tieren und Menschen wächst (Gregoraszczyk und Ptak., 2013). Die Auswirkungen von Umweltgiften auf die Unfruchtbarkeit von Männern und Frauen sind noch weitgehend unerforscht. Es mehren sich jedoch die Hinweise darauf, dass BPA Auswirkungen auf die menschliche Fruchtbarkeit hat und für Fortpflanzungsstörungen verantwortlich ist, z. B. für das Hodendysgenesiesyndrom, Kryptorchismus, Krebserkrankungen, verminderte Fruchtbarkeit beim Mann und Follikelverlust bei der Frau (Rochester 2013; Wisniewski, et al., 2015). Wiederkehrende Fehlgeburten, angeborene Defekte, Totgeburten, Hodenfunktionsstörungen, Spermienanomalien und eine beeinträchtigte männliche Fruchtbarkeit sind Berichten zufolge auf die berufliche Exposition gegenüber gefährlichen Chemikalien zurückzuführen (Kumar., 2018).

Einige Umweltschadstoffe, so auch BPA, sind auch als endokrine Disruptoren (EDs) bekannt, da sie körpereigene Hormone imitieren und das endokrine System stören können (Rehman et al., 2018). Zu diesen Stoffen gehören industrielle Verbindungen mit einer Affinität zu Östrogen-, Schilddrüsen- oder Androgenrezeptoren und können auch die Aktivität steroidogener Enzyme nachahmen oder antagonisieren (Caserta et al., 2008; Schug et al., 2011, Rehman et al., 2018).

Studien an Tiermodellen deuten darauf hin, dass der Lebensstil und die Exposition gegenüber EDC eine Rolle bei der Entstehung von Unfruchtbarkeit spielen können (Mendola et al., 2008), und mehrere Studien haben auch den Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber EDC und menschlicher Unfruchtbarkeit untersucht. Die Exposition gegenüber BPA stellt daher ein großes gesundheitliches Problem dar, da es in der Lage ist, endokrine Signalwege zu stören und selbst bei sehr niedrigen Dosen eine Vielzahl von Krankheiten beim Menschen zu verursachen (den Braver-Sewradj et al., 2020).

Darüber hinaus können endokrine Disruptoren mehrere Prozesse in den Eierstöcken beeinträchtigen, darunter die Bildung eines gesunden Primärfollikel-Pools, die Aufrechterhaltung eines konstanten Stroms wachsender Follikel und die normale steroidogene Kapazität, die alle für eine normale weibliche Fruchtbarkeit erforderlich sind (Hannon and Flaws 2015; Hannon et al., 2016; Pangas und Rajkovic., 2015).

Es wurde berichtet, dass BPA aufgrund seiner antiandrogenen oder antiöstrogenen Wirkung die HPG-Achse durch kompetitive Hemmung auf Rezeptorebene stört, was zu hormonellen Ungleichgewichten und schlechter Samenqualität bei Männern führt (Lassen et al., 2014).

Nach der Geschlechtsreife koordiniert die HPO-Achse die Eierstockfunktion und insbesondere die ovarielle Steroidogenese und Follikulogenese mit dem endgültigen Eisprung und bereitet die Fortpflanzungsorgane auf eine mögliche Schwangerschaft vor (Gregoraszcuk und Ptak., 2013). BPA kann die Hypothalamus-Hypophysen-Ovarial-Achse und damit die Fähigkeit der Frau, einen Eisprung zu haben und eine normale Schwangerschaft auszutragen, beeinträchtigen. Außerdem führte die BPA-Exposition zu einer Abnahme der Fortpflanzungsfähigkeit und einer Verzögerung oder Beseitigung der Pubertät (Huo et al., 2015a). Die Auswirkungen auf die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren-Achse (HPOA) (Monje et al., 2010; Patisaul et al., 2006; Rubin et al., 2006; Fernandez et al., 2009), die Steroidbiosynthese im Eierstock (Lee et al., 2013; Peretz et al., 2010; Grasselli et al., 2010; Romani et al., 2013) oder die Androgen-SBHG-Bindung (Tarantino et al., 2013; Kandaraki et al., 2011) zeigen deutlich, dass die potenziell schädlichen Auswirkungen von BPA auf die weibliche Fortpflanzung komplexer sind als eine "östrogene" Wirkung. Darüber hinaus führen Störungen der HPG-Achse, die durch Umweltschadstoffe induziert werden, zu Veränderungen der Gonadotropinspiegel, die sich in reduzierten LH- und FSH-Serumspiegeln niederschlagen (Adamkovicova et al., 2014; Wisniewski et al., 2015; Rehman et al., 2018; Ren et al., 2019). Studien zeigen, dass die Exposition gegenüber BPA und Triclosan zu einer verringerten Expression des LH-Rezeptors und einer damit verbundenen Verringerung der Adenylatzyklase-Aktivität führt, was eine verringerte Synthese von cAMP zur Folge hat (Kumar et al., 2008; Wisniewski et al., 2015).

Darüber hinaus werden der Prozess der Freisetzung von Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH), die Gonadotropin-Sekretion und die anschließende nachgeschaltete Signalgebung durch Umweltschadstoffe potenziell beeinträchtigt (Wisniewski et al., 2015; Adoamnei et al., 2018; Rehman et al., 2018; Ren et al., 2019). Außerdem ist bekannt, dass Umweltschadstoffe die Steroidogenese beeinträchtigen, indem sie eine hemmende Wirkung auf einen oder mehrere Schritte in den Steroidogenesewegen ausüben (Aydin and Erkan, 2017; Maske et al., 2020; Singh and Singh, 2019). Es wurde berichtet, dass die Exposition von Präimplantationsembryonen gegenüber BPA die Spiegel des steroidogenen akuten regulatorischen Proteins (StAR) und von P450_{scc} verringert, was zu einer verringerten Testosteronsynthese und zu einer Verzögerung der Hodenentwicklung bei Mäusen führt (Hong et al., 2016).

Die östrogenen Wirkungen von Bisphenol A (BPA), die bei fruchtbaren und unfruchtbaren italienischen Männern aus Großstädten, Städten und ländlichen Gebieten gemessen wurden, zeigten eine erhöhte Expression von ER-alpha und ER-beta mit anderen Kernrezeptoren. Darüber hinaus zeigte die Expression von ER eine positive Assoziation mit den BPA-Werten bei unfruchtbaren Männern aus dem Ballungsraum (La Rocca et al., 2015). Allerdings ist BPA im Vergleich zu Östradiol ein schwacher Agonist des Östrogenrezeptors (Acconcia et al., 2015), und die endogenen Östradiolspiegel sind etwa zehnmal niedriger als die in der menschlichen Follikelflüssigkeit gefundene BPA-Menge (Ikezuki et al., 2002; Kim et al., 2020; Zhou et al., 2021). Ursprünglich als schwaches Umweltöstrogen betrachtet, hat sich gezeigt, dass BPA schon bei sehr niedrigen Konzentrationen biologische Reaktionen stimuliert und in einigen seiner Wirkungen so stark ist wie Estradiol (E2) (Alonso-Magdalena et al., 2005 & 2008; Hugo et al., 2008; Zsarnovszky et al., 2005). Andererseits stört BPA die endokrinen Stoffwechselwege, da es eine schwache östrogene (1000-100.000-mal weniger als Östradiol), antiandrogene und antithyreotoxische Wirkung hat. Trotz des schnellen Stoffwechsels kann sich BPA in verschiedenen Geweben anreichern (Komarowska et al., 2015). Chemikalien, die auf die Produktion von Sexualsteroidhormonen im Eierstock abzielen, können zu Unfruchtbarkeit und anderen nicht reproduktiven Störungen führen (Pangas und Rajkovic 2015, Cauley 2015; Wierman 2007; Richards et al., 2015). Das vom Menschen aufgenommene BPA wird in der Leber mit einer Halbwertszeit von 6 Stunden verstoffwechselt und innerhalb von 24 Stunden mit dem Urin ausgeschieden (Huo et al., 2015b; Vandenberg et al., 2012). Dieses absorbierte BPA ist schnell Gegenstand von Konjugationsreaktionen durch Leberenzyme, wobei unkonjugierte Formen weniger als 1 % des gesamten BPA im Blut ausmachen. Anschließend wird das konjugierte BPA mit dem Urin ausgeschieden (Thayer et al., 2015). Dies führt dazu, dass ausgeschiedene konjugierte Phthalat-Metaboliten und BPA als Marker für die Exposition verwendet werden können.

Experimentelle Studien liefern einige wichtige Informationen, zum Beispiel, dass die Wirkungsweise von BPA in reproduktiven Geweben stark vom Expositionsfenster abhängig sein kann (Patisaul et al., 2006; Rubin et al., 2006; Varayoud et al., 2011; Bromer et al., 2010). Diese Arbeit wurde erstellt, um den Zusammenhang zwischen der BPA-Konzentration in der Follikelflüssigkeit & im Serum und der Fruchtbarkeit von Frauen, die sich einer IVF/ICSI-Behandlung unterziehen, zu untersuchen.

Darüber hinaus wurde beobachtet, ob es eine Beziehung zwischen BPA und oxidativem Stress (MDA- und ROS Konzentrationen) in Serum und in der Follikelflüssigkeit in Hinblick auf die erfolgreiche ART gibt.

Ein Ungleichgewicht zwischen freien Radikalen und (endogenen und exogenen) Antioxidantien in biologischen Systemen führt zu einem Zustand, der als oxidativer Stress bezeichnet wird. In diesem Fall sind die vorhandenen Antioxidantien nicht in der Lage, die ROS und RNS aus lebenden Spezies zu entfernen. Infolgedessen können sich überschüssige freie Radikale negativ auf verschiedene biologische Prozesse auswirken, was zur Zerstörung der Zellmembran, zur Blockierung der Wege wichtiger

Enzyme, zur Unterbrechung der Zellteilung, zur Zerstörung der DNA und zur Unterbrechung der Energieproduktion führt (Kurutas, 2016; Reuter et al., 2010). Mit anderen Worten: Die unwirksame Beseitigung freier Radikale führt zu oxidativem Stress. Oxidativer Stress ist der pathognomonische Faktor bei verschiedenen Erkrankungen des weiblichen Fortpflanzungssystems. Die verschiedenen Auswirkungen freier Radikale auf das weibliche Fortpflanzungssystem hängen vom Ort, der Konzentration und dem Ausmaß der Exposition gegenüber diesen Molekülen ab (Aruoma und Halliwell 1987).

Die Exposition gegenüber Umweltschadstoffen wirkt sich negativ auf die Gesundheit von Menschen und Tieren aus. Es ist auch bekannt, dass Umweltschadstoffe die Aktivitäten verschiedener Steroidhormonenzyme indirekt hemmen, indem sie oxidativen Stress induzieren (Saradha et al., 2008; Sheweita et al., 2016; Vaithinathan et al., 2008). Oxidativer Stress bei Frauen, die sich einer Gonadotropinstimulation unterziehen, wurde bisher wenig beachtet. Es gibt deutliche Hinweise darauf, dass oxidativer Stress an der Entstehung von Krankheiten beteiligt ist, die zu Unfruchtbarkeit bei Frauen führen, und dass er einer der wichtigsten Faktoren ist, die das Ergebnis einer ART negativ beeinflussen (Agarwal et al., 2005; Agarwal et al., 2006; Chandra et al., 2009; Marsillach 2010). ROS können jedoch für die Aufrechterhaltung der Homöostase sowie für andere zelluläre Funktionen von Nutzen sein (Finkel und Holbrook, 2000; Bhattacharyya et al., 2014). Auch hier ist es wichtig, sich daran zu erinnern, dass die primären freien Radikale die Superoxidanion-Radikale O_2^- und Hydroxylradikale OH sind, die sich von molekularem Sauerstoff (O_2) ableiten. Hohe Werte dieser Radikale können verschiedene biologische Probleme verursachen, die zu Krebs, Schlaganfall (Reuter et al., 2010), Herzinfarkt, Diabetes und anderen schwerwiegenden Erkrankungen führen können (Padureanu et al., 2019). Auch bei der assistierten Reproduktionstechnologie können ROS aus Kumuluszellen, Leukozyten und Kulturmedien entstehen.

In der vorliegenden Studie waren die Konzentrationen von BPA, MDA und ROS im Serum doppelt so hoch wie die Konzentrationen in der FF. Die Ergebnisse zeigten jedoch keine Korrelation zwischen den Konzentrationen von BPA und MDA im Serum oder in der Follikelflüssigkeit, wohingegen eine signifikante positive Korrelation zwischen den ROS-Konzentrationen im Serum und in der Follikelflüssigkeit festgestellt wurde ($r=0,602$; $p= 0,001$) (Tab. 31) (Abb.9). Ebenso waren die MDA-Konzentrationen in FF in allen Gruppen niedriger als die im Serum gefundenen Werte ($2,0\pm 0,9$; $2,7\pm 1,5$ und $2,4\pm 1,5$ ng/mL). Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Eizellreifung (Grad I und Grad II) und den ROS-Werten in der Follikelflüssigkeit festgestellt (Das et al., 2006). Ähnlich konnten Pasqualotto et al. (2004) keinen Zusammenhang zwischen der Lipidperoxidation LPO und den Gesamtantioxidantien (TAC) und der Eizellreifung feststellen.

Die vorliegenden Ergebnisse stimmen mit den Erkenntnissen mehrerer Forschungsgruppen überein, die gezeigt haben, dass eine erhöhte ROS-Bildung mit einer schlechten Oozytenqualität und einer niedrigen Befruchtungsrates verbunden ist (Khazaei et al., 2017).

Es wird angenommen, dass ROS die Eizellreifung, die Luteolyse und die Progesteronsekretion des Gelbkörpers, den Eisprung und die Follikelatresie beeinflussen (Nath and Roy, 2021). Daher führen IVF-Zyklen zu besseren Ergebnissen, wenn die Patientinnen auf den oxidativen Stress untersucht werden (Bedaiwy et al., 2004). Studien über die Pathophysiologie ungeklärter Unfruchtbarkeit haben ergeben, dass oxidativer Stress (OS) einer der zugrundeliegenden Faktoren sein kann (Agarwal et al., 2005).

5.1 Zusammenhang zwischen der Ätiologie der Unfruchtbarkeit und BPA im Serum und in der FF

Ovulationsstörungen, Eileiter- und Beckenerkrankungen, Endometriose und schlechte Eizellqualität gehören zu den häufigsten Ursachen weiblicher Subfertilität, während das reproduktive Alter und der Body-Mass-Index (BMI) wichtige demografische Determinanten sind (Broekmans and Fauser, 2009).

Die Endometriose gilt als Hauptursache für Beckenschmerzen und Subfertilität bei jungen Frauen. Außerdem wird die Endometriose aufgrund des Vorhandenseins von Autoantikörpern und des Zusammenhangs mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen und wiederkehrenden immunvermittelten Schwangerschaftsabbrüchen als Autoimmunerkrankung angesehen (Matarese et al., 2003). Darüber hinaus wird die BPA-Konzentration im Serum mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit von Endometriose in Verbindung gebracht (Cobellis et al., 2009). Das polyzystische Ovarsyndrom (PCOS) ist eine multifaktorielle metabolisch-endokrine Störung, die durch das Vorhandensein verschiedener Phänotypen gekennzeichnet ist und Frauen im reproduktiven Alter betrifft (Alviggi et al., 2017).

Die BPA-Exposition beeinflusst die Sekretion von Sexualhormonen, was sich auf die Morphologie und auf die Funktionen der Eierstöcke auswirkt, insbesondere auf die Follikulogenese, was zu PCOS-ähnlichen Anomalien führt (Fernandez et al., 2010; Patisaul et al., 2014). Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass die BPA-Exposition eine Rolle bei der Entstehung von PCOS spielen könnte (Dominguez, 2008; Patisaul et al., 2014). Darüber hinaus könnte sogar eine prä- bzw. perinatale Exposition gegenüber niedrigen BPA-Dosen die Entwicklung von PCOS-ähnlichen Anomalien im Erwachsenenalter fördern (Fernandez et al., 2010; Patisaul et al., 2014).

Mehrere Studien zeigen, dass Frauen mit PCOS eine höhere BPA-Konzentration aufwiesen als gesunde Frauen (Akin et al., 2015; Jukic et al., 2016). Außerdem wurde eine negative Korrelation zwischen der BPA-Konzentration im Urin und der Anzahl der Antralfollikel bei Frauen mit PCOS festgestellt (Souter et al., 2013). Die Tatsache, dass BPA bei unfruchtbaren Frauen mit PCOS mit einer Abnahme der Anzahl der Antralfollikel verbunden war, lässt vermuten, dass BPA die ovarielle Reserve beeinträchtigen könnte (Zhou et al., 2016). In der aktuellen Studie wurden die Patienten (n=86) nach

der Ätiologie der Unfruchtbarkeit in vier Gruppen eingeteilt: Patienten mit Endometriose, Andrologie, pathologischem Zyklus und idiopathisch. 25 Patientinnen (29,1 %) leiden unter einem unregelmäßigen Zyklus und 21 Patientinnen (24,4 %) waren idiopathisch (ungeklärte Ursache für Unfruchtbarkeit) (Tab. 10).

Auch die BPA-Konzentrationen im Serum von Patientinnen mit Endometriose, andrologischer Unfruchtbarkeit, unregelmäßigem Menstruationszyklus und idiopathischer Unfruchtbarkeit betragen ($13,0 \pm 2,7$; $12,8 \pm 2,9$; $12,0 \pm 3,4$ bzw. $13,8 \pm 3,0$ mg/ml) und die entsprechenden Werte in der Follikelflüssigkeit ($5,6 \pm 0,8$; $6,0 \pm 0,9$; $5,4 \pm 1,0$ und $5,6 \pm 0,8$ mg/ml für Patienten mit idiopathischer Unfruchtbarkeit). Die BPA-Konzentrationen im Serum und in der Follikelflüssigkeit waren in allen vier Gruppen gleich hoch und es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen festgestellt werden, weder im Serum ($p=0,076$) noch in der FF ($p > 0,05$) (Tab. 11 und 12).

Mehrere Beobachtungsstudien wurden durchgeführt, um den möglichen Zusammenhang zwischen BPA-Exposition und dem Auftreten von Endometriose beim Menschen zu untersuchen (Moreira Fernandez et al., 2019; Simonelli et al., 2017). Obwohl bei fortgeschrittener Endometriose höhere unbereinigte BPA-Konzentrationen im Urin beobachtet wurden, ergaben sich keine Unterschiede zwischen verschiedenen Endometriose-Stadien gemäß der Klassifizierung der American Fertility Society (Itoh et al., 2007). Cobellis et al. (2009) zeigten, dass bei 51,7 % von 58 Patientinnen mit Endometriose BPA-Konzentrationen im Urin nachgewiesen wurden, was auf einen möglichen Zusammenhang zwischen Endometriose und BPA schließen lässt.

Allerdings haben nur wenige experimentelle In-vivo-Studien den Zusammenhang zwischen BPA-Exposition und dem Auftreten von Endometriose untersucht, und es wurde berichtet, dass eine BPA-Exposition das Auftreten von Endometriose-ähnlichen Läsionen erhöht (Signorile et al., 2010). Die Ergebnisse der aktuellen Studie stimmen mit den Ergebnissen von Upson et al. (2014) überein, die keinen Zusammenhang zwischen BPA-Spiegeln im Urin und Endometriose insgesamt feststellten, jedoch wurde ein positiver Zusammenhang zwischen BPA-Spiegeln im Urin und nicht-ovarieller Endometriose festgestellt (Upson et al., 2014). Das polyzystische Ovarsyndrom wurde mit BPA-Spiegeln im Blut in Verbindung gebracht (Kandaraki et al., 2011), und die positive Korrelation zwischen Androgenkonzentration und BPA im Serum könnte ein Grund dafür sein (Takeuchi et al., 2004). Die Rolle von BPA in der Pathogenese von PCOS wurde durch eine experimentelle Ex-vivo-Studie untersucht, in der niedrige BPA-Dosen eine Verringerung der Zellebensfähigkeit von Granulosa-Lutein-Zellen bewirkten, die aus der Follikelflüssigkeit von PCOS-Frauen isoliert wurden, die sich einer ART unterzogen (Dominguez et al., 2008). Andererseits waren die Serumkonzentrationen von Malonyldialdehyd (MDA) bei andrologisch bedingter Unfruchtbarkeit hoch ($7,1 \pm 2,6$ ng/ml), gefolgt von Zyklusproblemen ($6,2 \pm 1,1$ mg/ml) und idiopathischer Unfruchtbarkeit ($5,8 \pm 1,0$ mg/ml). Die MDA-Konzentration unterschied sich jedoch nicht signifikant zwischen den Gruppen ($p=0,070$) (Tab.13). Ebenso zeigte die MDA-Konzentration im Serum keinen signifikanten Unterschied ($p=0,070$)

zwischen Patientinnen mit Endometriose ($5,9 \pm 2,6 \mu\text{g/ml}$), Andrologiefaktor ($7,1 \pm 2,6$); pathologischem Zyklus ($6,2 \pm 1,1 \mu\text{g/ml}$) und der idiopathischen Gruppe ($5,8 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$). Andererseits zeigte die Konzentration von Malondialdehyd (MDA) in der Follikelflüssigkeit der untersuchten Patientinnen mit Endometriose, Andrologie, pathologischem Zyklus und Idiopathie einen signifikanten Unterschied ($p=0,036$). Dennoch waren die ROS-Konzentrationen im Serum in allen untersuchten Gruppen (Endometriose, männliche Unfruchtbarkeit, Patienten mit Zyklusunregelmäßigkeiten und Patienten mit idiopathischer Unfruchtbarkeit) ähnlich ($621,4 \pm 167,3$; $575,3 \pm 178,6$; $619,8 \pm 166,6$ bzw. $606,0 \pm 143,8 \text{ mg/ml}$) (Tab. 14). Darüber hinaus zeigten die ROS-Konzentrationen in der FF keinen signifikanten Unterschied zwischen der Endometriose-Gruppe ($266,0 \pm 181,8 \text{ mg/mL}$), der Gruppe mit männlicher Unfruchtbarkeit ($274,1 \pm 183,0 \text{ mg/mL}$), der Gruppe mit Zyklusunregelmäßigkeiten ($221,6 \pm 174,4 \text{ mg/mL}$) und der Gruppe mit idiopathischer Unfruchtbarkeit ($225,7 \pm 131,5$) (Tab.16). Die ROS-Konzentration zeigte also keinen signifikanten Unterschied zwischen den untersuchten Gruppen, weder im Serum noch in der FF (Tab.15).

Ungeachtet der offensichtlichen Pathologien ist die Rolle der toxischen Produkte, die während des oxidativen Stresses entstehen, bei der Entstehung der weiblichen Subfertilität gut belegt (Aitken und Clarkson 1987; Behrman et al., 2001).

Die entscheidende Rolle der freien Radikale bei der Regulierung der verschiedenen physiologischen Reproduktionsprozesse macht ihren Einfluss auf die Eizellen, Spermien und Embryonen und deren Mikroumgebung deutlich. Diese Veränderungen in der Mikroumgebung wirken sich direkt auf die Follikelflüssigkeit, die Salpingen und die Peritonealflüssigkeit aus, die die Qualität der Eizellen, die Interaktion zwischen Spermien und Eizellen, die Einnistung des Embryos und seine frühe Entwicklung wesentlich bestimmen (Behrman et al., 2001; Sugino et al., 2000). Daher kann oxidativer Stress die Aussichten auf eine günstige Schwangerschaft beeinträchtigen und wird auch mit der Pathophysiologie von Endometriose, Hydrosalpinges, polyzystischem Ovarsyndrom (PCOS) und ungeklärter Subfertilität in Verbindung gebracht (Agarwal et al., 2012).

5.2 Zusammenhang zwischen dem Alter der Patientinnen, cBPA, cMDA, cROS im Serum und in der FF und den ICSI-Ergebnissen

Die BPA-Exposition führte zu einer Abnahme der Fortpflanzungsfähigkeit und einer Verzögerung oder Beseitigung der Pubertät (Huo et al., 2015a). Die häufigsten Ursachen für weibliche Unfruchtbarkeit sind neben Endometriose (EM) und polyzystischem Ovarialsyndrom (PCOS) die altersabhängige und altersunabhängige reduzierte ovarielle Reserve (ROR) (Pisarska et al., 2019). Die untersuchten Patientinnen in der aktuellen Studie wurden nach dem Alter in drei Gruppen eingeteilt: G.1 (n=21) umfasst die Patientinnen <30 Jahre, während die zweite Gruppe (n=36) die Patientinnen zwischen 30-35 Jahren und die dritte Gruppe (G.3; n=29) die Patientinnen älter als > 35 Jahre umfasst. Die im Serum ermittelten BPA-Konzentrationen betragen $(13,1 \pm 2,6; 12,6 \pm 2,6$ bzw. $13,1 \pm 3,7$ ng/ml) und die entsprechenden Werte im FF $(5,9 \pm 0,9; 5,7 \pm 0,8$ und $5,5 \pm 1,0$ ng/ml). Die BPA-Konzentrationen zeigten jedoch weder im Serum noch in der Follikelflüssigkeit (FF) einen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen (Tab. 17 und 18). Es wurde gezeigt, dass BPA die Bildung von ROS induziert, was wiederum zu einer Induktion der Produktion von oxidativen DNA-Basen führt (Kovacic, 2010). Außerdem wurde gezeigt, dass BPA-Metaboliten (BPA-Chinon) DNA-Schäden verursachen, indem sie kovalente Addukte mit DNA und Addukte mit Desoxyguanosin bilden (Lacroix et al., 2011; Kolšek et al., 2012).

Es wurden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der ROS-Konzentration in den drei Gruppen festgestellt. Außerdem waren die ROS-Konzentrationen in der FF in allen drei Gruppen niedriger als im Serum, und es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den ROS-Konzentrationen in den verschiedenen untersuchten Altersgruppen $(231,1 \pm 146,8; 252,8 \pm 172,5$ und $207,1 \pm 161,7$ ng/mL) (Tab. 21 und 22). Die Auswirkungen von ROS auf die weibliche Fortpflanzung sind noch unklar und müssen weiter untersucht werden. ROS spielen jedoch eine wichtige physiologische Rolle im weiblichen Fortpflanzungstrakt, angefangen bei der Bestimmung der Eierstockreaktion bis hin zur Befruchtung, Embryonalentwicklung und Schwangerschaft (Agarwal and Allamaneni 2004).

In der Literatur finden sich derzeit widersprüchliche Ergebnisse zu den schädlichen oder positiven Auswirkungen von ROS während der assistierten Reproduktion. Einige Autoren vermuten, dass oxidativer Stress die Qualität der Eizellen und Embryonen und damit die Befruchtungsrate verändert (Du Plessis et al., 2008), während andere Autoren (Jozwik et al., 1999) berichten, dass Anzeichen von Lipidperoxidation in der FF nicht das Reproduktionspotenzial der Eizellen widerspiegeln.

Darüber hinaus wurde gezeigt, dass höhere ROS-Konzentrationen und Anzeichen von Lipidperoxidation (Attaran et al., 2000, Pasqualotto et al., 2004) bei Frauen, die durch IVF schwanger wurden, vorhanden sind, aber auch, dass eine höhere antioxidative Gesamtkapazität (TAC) mit einem erhöhten Befruchtungspotenzial bei Frauen, die sich einer IVF unterziehen, verbunden ist (Oyawayo et

al., 2003). Die Konzentrationen reaktiver Sauerstoffspezies waren im Serum höher als in der FF ($596,2 \pm 161,9$ vs. $232 \pm 162,3$). Die ROS-Konzentrationen unterschieden sich jedoch nicht signifikant zwischen den Patientinnen, die schwanger wurden, und denen, die nicht schwanger wurden, und zwar nicht nur im Serum ($616 \pm 166,1$ vs. $582,6$; $p < 0,302$), sondern auch in der FF ($247 \pm 164,2$ vs. $221,6 \pm 161,8$; $p < 0,409$) (Tab.6 und 7).

Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass die ROS-Konzentration im Serum von Raucherinnen höher ($613,3 \pm 179,2$), aber nicht signifikant höher ($p = 0,657$) war als bei Nichtrauchern ($592,3 \pm 158,8$).

Darüber hinaus waren die FF-Konzentrationen bei Rauchern ($231,5 \pm 190,1$ mg/ml) und Nichtrauchern ($232,2 \pm 156,8$ mg/ml; $p = 0,920$) ähnlich (Tab. 8 und 9). Es wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Oozytenreifung und den ROS-Werten in der Follikelflüssigkeit für Oozyten des Grades I und II beobachtet (Das et al., 2006). In ähnlicher Weise konnten Pasqualotto et al. (2004) keinen Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Lipidperoxidation (LPO) und Gesamtantioxidantien (TAC) und der Oozytenreifung feststellen.

Die Konzentrationen von BPA, MDA und ROS im Serum und im FF zeigten keine Korrelation mit dem Alter der Patientinnen in dieser Studie (Tab. 23; Abb.3 und 4). Allerdings war das Alter der Patientinnen, die nicht schwanger wurden, höher, aber nicht signifikant, im Vergleich zu den Patientinnen, die nach der ICSI-Behandlung schwanger wurden. ($33, 6 \pm 5,0$ vs. $32,8 \pm 3,9$; $p = 0,447$). Ebenso gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Altersgruppen und der Befruchtungsrate und der durchschnittlichen Anzahl der transferierten Embryonen (Abb.8).

Die aktuelle Studie zeigte, dass die ROS-Konzentration im Serum und in der FF mit zunehmendem Alter der Patienten nicht anstieg (Tabelle 21 und Tabelle 22). Die ROS-Konzentration im Serum von Patienten, die jünger als <30 Jahre alt waren, betrug $585,6 \pm 170,5$; $604,4 \pm 153,4$ in der Patientengruppe im Alter zwischen 30-35 Jahren und $593,9 \pm 170,8$ bei Patienten, die älter als 35 Jahre waren.

Die entsprechenden Werte in der FF waren ($231,1 \pm 146,8$; $252,8 \pm 172,5$ bzw. $207,1 \pm 207,1$). Außerdem zeigten die ROS-Konzentrationen keinen signifikanten Unterschied zwischen den drei Altersgruppen, nicht nur im Serum, sondern auch in der FF. Außerdem konnte keine Korrelation zwischen der ROS-Konzentration im Serum ($r = 0,002$) oder in der FF ($r = 0,049$) nachgewiesen werden.

Ebenso ergaben die Ergebnisse dieser Studie, dass die Malonyldialdehyd (MDA)-Konzentrationen (Lipidperoxidation) im Serum höher waren als die Werte in der FF ($6,4 \pm 1,9$; $2,4 \pm 2,1$ mg/ml).

Die MDA-Konzentration zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Patientinnen, die schwanger wurden und denen, die nicht schwanger wurden, weder im Serum ($6,3 \pm 200$ vs. $6,4 \pm 1,9$; $p = 0,745$) noch in der FF ($2,3 \pm 0,8$ vs. $2,5 \pm 1,7$; $p = 0,338$) (Tab.4 und 5).

Die Schwangerschaftsrate der Patientinnen in der aktuellen Studie zeigte keinen Zusammenhang mit dem Alter der Patientinnen. Das Alter der Patientinnen, die nicht schwanger wurden, war nicht

signifikant höher als das der Patientinnen, die schwanger wurden ($33, 6 \pm 5, 0$ vs. $32, 8 \pm 3, 9$; $p=0,447$). Die durchschnittliche Anzahl der entnommenen Eizellen war bei den Patientinnen, die schwanger wurden, signifikant höher als bei den Patientinnen, die nicht schwanger wurden: Die Befruchtungsraten und die durchschnittliche Anzahl der transferierten Embryonen korrelierten jedoch nicht mit dem Alter der Patientinnen ($r=0,138$; $p=0,206$). Außerdem war die MDA-Konzentration im Serum der drei Patientengruppen gleich hoch ($6, 4 \pm 2, 3$; $6, 6 \pm 2, 1$ bzw. $6, 0 \pm 1, 4$ ng/mL). Die MDA-Konzentrationen im Serum waren in allen drei untersuchten Gruppen gleich hoch ($6, 4 \pm 2, 3$; $6, 6 \pm 2, 1$ und $6, 0 \pm 1, 4$). Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen festgestellt. Allerdings war die MDA-Konzentration in der FF in Gruppe 2 (Frauen im Alter von 30-35 Jahren) höher als in Gruppe 1 (Frauen jünger als 30 Jahre) ($2, 7 \pm 1, 5$ vs. $2, 0 \pm 0, 9$; $p=0,058$).

5.3 Zusammenhang zwischen Body-Mass-Index (BMI) und cBPA-, cMDA- und cROS im Serum und in der FF und den ICSI-Ergebnissen

Die BPA-Exposition wurde mit einer Beeinträchtigung der Fortpflanzungsfähigkeit in Verbindung gebracht. Toxische Umweltstoffe, insbesondere Substanzen, die die endokrine Funktion stören, haben in letzter Zeit viel Aufmerksamkeit auf sich gezogen, da sie die Synthese, die Sekretion, den Transport, den Stoffwechsel und die Bindung von Hormonen beeinträchtigen können (Li et al., 2015).

BPA wurde in der Mehrheit der menschlichen Bevölkerung mit unkonjugierten zirkulierenden Konzentrationen im Bereich von 0,1 bis 2 ng/ml (0,4 bis 8,8 nM) nachgewiesen (Vandenberg et al., 2007a).

Wu et al. (2020) fanden eine positive und signifikante Beziehung zwischen BPA bei beiden Geschlechtern, was darauf hindeutet, dass die Exposition gegenüber BPA das Risiko von Fettleibigkeit erhöhen könnte. Sie bestätigten die Ergebnisse einiger früherer Studien, die zeigten, dass höhere BPA-Konzentrationen im Urin mit Fettleibigkeit in Verbindung gebracht wurden (Manikkam et al., 2013). Der folgende Mechanismus könnte diesen Zusammenhang zwischen BPA-Belastung und Fettleibigkeit erklären: Die Freisetzung von Adiponektin und Adipokin, einem wichtigen Schutzfaktor gegen abdominale Fettleibigkeit, könnte durch BPA-Belastung gehemmt werden. Laut Alonso-Magdalena et al. (2016) verändert Bisphenol A mehrere Stoffwechselfunktionen.

Darüber hinaus wurde das Vorhandensein von zirkulierendem aktivem BPA mit mehreren menschlichen Krankheiten in Verbindung gebracht, darunter Stoffwechselerkrankungen (Adipositas, Insulinresistenz, Diabetes) (vom Saal & Myers., 2008), aber auch mit weiblicher Unfruchtbarkeit und Krankheiten, die die weibliche Fruchtbarkeit beeinträchtigen (Ziv-Gal & Flaws., 2016). Frühere tierexperimentelle und epidemiologische Studien haben einen Zusammenhang zwischen der Exposition gegenüber EDCs in

niedrigen Dosen und dem Adipositasrisiko nahegelegt (Legler et al., 2015). In der vorliegenden Studie wurden die Patienten (n= 80) nach dem BMI wie folgt in vier Gruppen eingeteilt (Tab. 1): G.1 (n= 4) Patienten mit Leichtgewicht und G. 2 (n=50) Normalgewicht; G.3 (n= 19) Übergewicht und G.4 (n= 7) Adipositas.

Die BPA-Konzentration im Serum zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen mit Übergewicht und Adipositas ($12,4 \pm 2,6$ vs. $14,0 \pm 1,4$ ng/mL; $p= 0,43$) (Tab. 25). Die anderen BMI-Gruppen zeigten keinen signifikanten Unterschied in der BPA-Konzentration im Serum der Patienten, die sich einer ICSI-Therapie unterzogen (Tab. 24). Außerdem wiesen die BMI-Gruppen ähnliche BPA-Konzentrationen in der Follikelflüssigkeit auf und es konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Tab. 26).

Andererseits wurde die Rolle von ROS bei der weiblichen Unfruchtbarkeit eingehend untersucht. In der vorliegenden Studie waren die ROS-Konzentrationen im Serum der Patientinnen in allen vier untersuchten Gruppen ähnlich, ohne dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt wurde ($645,7 \pm 255,8$ μ M/l; $590,0 \pm 140,6$ μ M/l; $620,6 \pm 190,8$ μ M/l und $652,3 \pm 125,1$ μ M/l; $P= 0,07$). Die entsprechenden Konzentrationen in der FF waren ($211,8 \pm 207,3$ μ M/l; $229,6 \pm 152,0$ μ M/l; $253,3 \pm 177,1$ μ M/l bzw. $291,3 \pm 190,9$ μ M/l). (Tab.29). Die ROS-Konzentration in der vorliegenden Studie im Serum und in der FF zeigte keine Korrelation mit dem BMI ($r=0,201$; $p=0,074$ bzw. $r=-0,093$) (Tab. 1). BPA und ROS zeigten keine signifikanten Korrelationen zum BMI (Tab. 30; Abb. 5).

Außerdem war die MDA-Konzentration im Serum (Tab. 26) in der Gruppe der untergewichtigen Patienten am niedrigsten ($5,3 \pm 1,2$ μ g/ml) und in der Gruppe der Normalgewichtigen mit $6,3 \pm 1,9$ μ g/ml signifikant niedriger ($p=0,027$) als die Konzentration in der Gruppe der Adipösen ($7,9 \pm 2,2$ μ g/ml). Die MDA-Konzentration in der FF war niedriger als der Wert im Serum und es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den vier untersuchten Gruppen festgestellt werden (Tab.27). Allerdings korrelierte die MDA-Konzentration im Serum signifikant positiv ($r= 0,230$; $p=0,040$) mit dem Gewicht der Patienten.

Die Befruchtungsrates zeigte eine schwache negative Korrelation mit dem BMI ($r=0,203$; $p=0,071$), die mittlere Anzahl der transferierten Embryonen zeigte keine Korrelation mit dem BMI, auch hat der BMI keinen Einfluss auf die mittlere Anzahl der transferierten Embryonen (Abb.9 und 10). Die Korrelation zwischen Body Mass Index und Befruchtungsrates war in dieser Studie nicht signifikant ($r=-0,203$; $p=0,071$) (Tabelle 9). Darüber hinaus war die mittlere Anzahl der übertragenen Eizellen in allen untersuchten Gruppen ähnlich (2,0; 2,0; 2,3 bzw. 1,9). Es konnte auch keine Korrelation zwischen dem Body-Mas-Index (BMI) und der mittleren Anzahl der übertragenen Eizellen festgestellt werden (Tabelle. 10).

Außerdem war der BMI der Patientinnen, die schwanger wurden, und derjenigen, die nicht schwanger wurden, ähnlich und es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt ($23, 1 \pm 3, 5$ vs. $23, 8 \pm 4, 3$; $p=0,646$).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stimmen mit den Ergebnissen von Chen et al. (2021) überein, die feststellten, dass der BMI nicht mit den IVF/ICSI-Schwangerschaftsergebnissen, einschließlich der hCG-positiven Rate, der klinischen Schwangerschaftsrate, der Implantationsrate, der Eileiterschwangerschaftsrate, der anhaltenden Schwangerschaftsrate, der frühen Abortrate und der Lebendgeburtsrate, assoziiert war. Der Anteil der Kaiserschnitte stieg jedoch mit dem BMI. Wu et al. (2020) wiesen in einer systematischen Übersichtsarbeit darauf hin, dass es eine positive Korrelation zwischen der BPA-Konzentration und dem Adipositasrisiko gibt. Eine Dosis-Wirkungs-Analyse ergab, dass ein Anstieg der BPA-Konzentration um 1 ng/ml das Risiko für Fettleibigkeit um 11 % erhöhte. Epidemiologische Studien in den Vereinigten Staaten und China haben positive Zusammenhänge zwischen BPA und Adipositasmaßen bei Erwachsenen festgestellt (Bhandari et al., 2013). Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass BPA als östrogenähnliche Verbindung in Tiermodellen unterschiedliche Auswirkungen auf Männchen und Weibchen hat (Wang et al., 2012), obwohl es nur wenige Belege für Geschlechtsunterschiede im Zusammenhang zwischen BPA und Fettleibigkeit beim Menschen gibt.

5.4 Zusammenhang zwischen der cBPA im Serum und in der FF und den ICSI-Ergebnissen

Bisphenol A wirkt unter anderem auf Kernrezeptoren und stört die Hormonreaktionswege und die Steroidogenese, was die weibliche Unfruchtbarkeit beeinflusst (Huo et al., 2015a). Die BPA-Konzentrationen korrelierten negativ mit den AMH- und FSH-Spiegeln am Tag 3, aber die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant (Zhou et al., 2016). Souter et al. fanden "keinen Zusammenhang zwischen den an die spezifische Schwerkraft angepassten BPA-Werten und den Tag-3-FSH-Werten bei Frauen, die sich einer IVF-Behandlung unterzogen" (Souter et al., 2013).

In der aktuellen Studie erhielten 40,5 % ($n= 34$) der Patientinnen ($n=86$) GnRh zur hypophysären Down-Regulation, gefolgt von rekombinantem follikelstimulierendem Hormon (rFSH), und 47 Patientinnen (54,7 %) erhielten Gn-RH und rFSH + humanes menopausales Gonadotropinhormon (HMG). 3 Patientinnen erhielten nur (HMG) nach Hypophysen-Down-Regulation und zwei Patientinnen andere gemischte Hormone.

Bei Verwendung des Stimulationsprotokolls Gn-RH und rFSH (3) war die mittlere Anzahl der entnommenen Eizellen und die mittlere Anzahl der befruchteten Eizellen signifikant höher im Vergleich zur Gruppe mit Gn-RH, rFSH und HMG ($11,4 \pm 5,3$; $5,9 \pm 4,0$ vs. $8,3 \pm 4,5$ und $4,3 \pm 3,0$) (Tab. 33 und 34).

Die Befruchtungs- und Transferrate zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Stimulationsprotokollen ($51,9 \pm 24,6$; $2,0 \pm 0,8$ vs. $55,2 \pm 24,7$ und $2,1 \pm 0,7$) (Tab. 35).

Die Schwangerschaftsrate (47%) nach Anwendung von GnRh + rFSH für das Protokoll der kontrollierten ovariellen Hyperstimulation war höher als GnRh+rFSH +HMG (36%), aber es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Stimulationsgruppen festgestellt (Tab. 36 und Abb.7).

Außerdem wurde gezeigt, dass eine verminderte Reaktion der Eierstöcke, eine geringere Blastozystenbildung, ein höheres Implantationsversagen und wiederholte Fehlgeburten mit einer steigenden BPA-Konzentration im Urin einhergehen (Sugiura et al., 2005; Ehrlich et al., 2012a). Anderen Humanstudien zufolge wurden BPA-Konzentrationen im Urin von Frauen vor der Empfängnis mit einer verminderten Fruchtbarkeit in Verbindung gebracht (Wang et al., 2013). Zahlreiche Studien haben berichtet, dass Umweltschadstoffe ihre reproduktionstoxischen Wirkungen durch Eingriffe in das endokrine System entfalten (Buck Louis et al., 2018; Dankers et al., 2013; Jeng, 2014; McLachlan, 2016).

Der Mensch ist BPA kontinuierlich ausgesetzt, und die Hauptquelle der Exposition ist die Aufnahme von kontaminierten Lebensmitteln oder Wasser. Obwohl der Zusammenhang zwischen der BPA-Exposition und einigen gynäkologischen Erkrankungen immer noch zweifelhaft ist, gibt es derzeit genügend Beweise, um Vorsichtsmaßnahmen gegen eine übermäßige BPA-Exposition zu ergreifen. Bei Frauen, die sich einer In-vitro-Fertilisation (IVF) unterziehen, wurden mehrere Zusammenhänge zwischen der BPA-Konzentration in Serum und Urin festgestellt. Ziv-Gal et al. (2015) wiesen darauf hin, dass BPA in niedrigen Dosen ($110-438 \mu\text{M}$) den Östradiolspiegel senkt und das Wachstum von Follikeln hemmt, die aus Wildtyp- und AhR-Knockout-Mäusen isoliert wurden, und dass AhR-Signalwege an der modulierenden Wirkung von BPA auf Follikel maßgeblich beteiligt sein könnten. Bei erwachsenen Frauen wurde jedoch keine tumorerzeugende Wirkung von BPA auf die Gebärmutter nachgewiesen (Hiroi et al., 2004).

Es gibt nur wenige Daten zur Messung von Phthalatestern und BPA in menschlicher Follikelflüssigkeit. Ikezuki et al. (2002) maßen den BPA-Gehalt bei gesunden Frauen, darunter mehrere, die sich einer In-vitro-Fertilisation (IVF) unterzogen. Die Autoren stellten bei 36 entnommenen Follikelflüssigkeiten einen durchschnittlichen BPA-Spiegel ($2,40 \pm 0,8 \text{ ng/ml}$) fest. Die Follikelflüssigkeit bildet die eigentliche Umgebung der reifen Eizelle vor der Befruchtung und kann Parameter des IVF-Ergebnisses wie Befruchtung, Teilung des Embryos und Schwangerschaftsraten beeinflussen (Agarwal et al., 2003). In den letzten zehn Jahren hat das Interesse an biochemischen Analysen zur Erforschung der metabolischen Zusammensetzung der Follikelflüssigkeit (FF) zugenommen, die sowohl die Eizellen als auch die Embryoqualität stark beeinflussen kann (Dumesic et al., 2015). Einige metabolomische Studien haben sogar signifikante Unterschiede in der FF mit negativen IVF-Ergebnissen im Vergleich zur FF mit positiven IVF-Ergebnissen festgestellt (Wallace et al., 2012; Shehadeh et al., 2019).

Das höhere Risiko für Unfruchtbarkeit und ein schlechtes Ansprechen der Eierstöcke auf IVF-Behandlungen, dass bei Frauen mit höheren BPA-Konzentrationen beschrieben wurde, deutet auf Auswirkungen auf die Eizellenqualität und die Funktion der Eierstöcke bei Frauen hin (Caserta et al., 2011; Ehrlich et al., 2012b; Rochester et al., 2013; Bloom et al., 2011b; Caserta et al., 2013). Dies steht im Gegensatz zu einem anderen Bericht (Krotz et al., 2012), in der Follikelflüssigkeit von fünf zufällig ausgewählten unfruchtbaren Frauen aus einem IVF-Zentrum untersucht wurde: BPA war in allen fünf Proben der Follikelflüssigkeit nicht nachweisbar (Krotz et al., 2012). Dieser Unterschied könnte sowohl durch methodische Probleme (in der ersten Studie wurde eine ELISA-Messung verwendet, während in der zweiten Studie BPA mit einem HPLC-System gemessen wurde) als auch durch die sehr geringe Anzahl der von Krotz et al. (2012) untersuchten Probanden begründet sein. In der vorliegenden Studie gab es keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Dauer der Unfruchtbarkeit, des Alters der Patientinnen oder der Anzahl der entnommenen, befruchteten und geteilten Eizellen sowie der Schwangerschaftsrate in den beiden untersuchten Gruppen.

Die BPA-Konzentration im FF betrug fast 50 % der im Serum gefundenen Konzentration, und diese Konzentration war bei den Patientinnen, die nicht schwanger wurden, höher als bei denen, die schwanger wurden ($6,0 \pm 0,8$ vs. $5,4 \pm 0,1$ mg/ml) (Tab. 2 und 3). Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Borjac et al. (2020) überein, die eine Studie durchführten, um den Zusammenhang zwischen der BPA-Konzentration im Urin und den Ergebnissen der In-vitro-Fertilisation (Metaphase II (MII)-Oozytenausbeute, Embryo höchster Qualität, Befruchtungsrate, Implantationsrate und klinische Schwangerschaft) bei Frauen (n= 450) aus einer Klinik für Unfruchtbarkeit zu untersuchen. Die BPA-Exposition wurde jedoch nicht mit der Embryoqualität, der Befruchtungsrate und der klinischen Schwangerschaft in Verbindung gebracht.

In experimentellen Studien hat die perinatale Exposition Störungen der Prophase-Ereignisse und einen Anstieg der multiplen Oozyten-Follikel (MOFs) und der anfänglichen Follikel-Rekrutierung mit einer erhöhten Anzahl von Primär-, Sekundär- und Antralfollikeln gezeigt (Zhang et al., 2012; Hunt et al., 2012; Susiarjo et al., 2007; Rodríguez et al., 2010; Chao et al., 2012). In der vorliegenden Studie war die durchschnittliche Anzahl der transferierten Embryonen bei den Patientinnen, die schwanger wurden ($2,3 \pm 0,6$) signifikant höher ($p=0,007$) als bei der Gruppe der Patientinnen, die nicht schwanger wurden ($1,9 \pm 2,0$). In der aktuellen Studie wurden 86 Patientinnen eingeschlossen, 35 Patientinnen wurden schwanger und 51 wurden nicht schwanger. Die BPA-Konzentration im Serum ($12,2 \pm 2,9$ vs. $13,4 \pm 3,0$) oder im FF ($5,4 \pm 0,1$ vs. $5,4 \pm 6,0$) unterscheidet sich jedoch nicht signifikant ($p=0,069$) zwischen den beiden untersuchten Gruppen (schwanger/nicht schwanger) (Tab. 2, 3)

Es ist darauf hinzuweisen, dass die BPA-Konzentration in der Follikelflüssigkeit der Patientinnen, die schwanger wurden, höher war als bei denen, die nicht schwanger wurden, auch wenn der Unterschied statistisch nicht signifikant war. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Ehrlich et al. überein, die berichteten, dass bei Frauen, die sich einer In-vitro-Fertilisation unterzogen, eine höhere BPA-

Konzentration im Urin mit einem höheren Implantationsversagen verbunden war, aber dieser Trend erwies sich als statistisch nicht signifikant (Ehrlich et al., 2012a). Ryan et al. (2010) zeigten, dass die BPA-Exposition von männlichen und weiblichen Ratten (2-200 µg/kg Körpergewicht/Tag) keinen Einfluss auf die mütterliche Trächtigkeit oder Gewichtszunahme oder das Geburtsgewicht von exponierten Weibchen sowie auf die Reproduktionsmorphologie, die Fruchtbarkeit, die Fertilität oder das sexualdimorphe Verhalten hatte. Im Gegensatz dazu wurden in anderen Humanstudien BPA-Konzentrationen im Urin von Frauen vor der Empfängnis mit einer verminderten Fruchtbarkeit in Verbindung gebracht (Wang et al., 2013).

Darüber hinaus wurde gezeigt, dass eine verringerte Reaktion der Eierstöcke, eine geringere Blastozystenbildung, eine höhere Implantationsrate und wiederholte Fehlgeburten mit einer steigenden BPA-Konzentration im Urin einhergehen (Sugiura et al., 2005).

Andererseits fanden Buck Louis et al. keinen Zusammenhang zwischen der Gesamt-BPA-Konzentration im Urin und einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit bei gesunden Frauen (Buck Louis et al., 2014). Wenn sich unfruchtbare Frauen einer In-vitro-Fertilisation (IVF) unterziehen, ist bekannt, dass nur 32 % der IVF-Zyklen zu einer Schwangerschaft führen (Pisarska et al., 2019) und dass nur ein Bruchteil der in einem IVF-Zyklus gewonnenen Eizellen (7 %) das Potenzial hat, sich zu einem lebensfähigen Embryo zu entwickeln, der für eine Lebendgeburt bestimmt ist (Patrizio und Sakkas et al., 2009). Darüber hinaus konnte beim Vergleich der ROS-Konzentration im Serum ($616,2 \pm 166,1$ vs. $582,6 \pm 159,1$; $p=0,302$) von schwangeren und nicht schwangeren Patientinnen und FF ($247,3 \pm 164,2$ vs. $221,6 \pm 161,8$; $p=0,409$) kein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Tab. 6 und Tab.7). Andere Faktoren wie das Rauchen, die die IVF/ICSI-Ergebnisse beeinflussen könnten, wurden analysiert, indem die Patientinnen in zwei Gruppen unterteilt wurden: Raucherinnen und Nichtraucherinnen. Auch die ROS-Konzentrationen im Serum ($613,3 \pm 179,2$) und in der FF ($231,5 \pm 190,1$) waren bei den Raucherinnen gleich hoch wie bei den Nichtraucherinnen ($592,3 \pm 158,8$; $p=0,657$) oder in der FF ($232,2 \pm 156,8$; $p=0,920$) (Tab. 8 und Tab.9). Die MDA-Konzentration im Serum war bei den Patientinnen, die schwanger wurden, und denen, die nicht schwanger blieben, gleich hoch ($6,3 \pm 2,0$ vs. $6,4 \pm 1,9$; $p=0,745$). Diese Konzentrationen waren jedoch höher als die Konzentrationen in der FF bei schwangeren ($2,3 \pm 0,8$) und nicht schwangeren Patientinnen ($2,5 \pm 1,7$). Die MDA-Konzentrationen waren in der FF von Frauen, die nach der IVF nicht schwanger wurden, signifikant höher als bei denen, die schwanger wurden, was auf eine verstärkte Lipid- und Proteinperoxidation hinweist.

Die vorliegenden Ergebnisse stimmen mit denen von Mínguez Alarcón et al. (2015) überein, die eine prospektive Kohortenstudie am Massachusetts General Hospital Fertility Center durchführten, an der 256 Frauen (n=375 Zyklen) mit In-vitro-Fertilisationszyklen teilnahmen, die zwischen 2004 und 2012 bis zu zwei Urinproben vor der Eizellentnahme abgaben (insgesamt n=673). Die BPA-Konzentrationen im Urin standen nicht im Zusammenhang mit der Dicke der Gebärmutterwand, den Östradiolspitzenwerten, dem Anteil hochwertiger Embryonen oder der Befruchtungsrate. Die Forscher

konnten keinen Zusammenhang zwischen den BPA-Konzentrationen im Urin und der Einnistung, der klinischen Schwangerschaft oder der Lebendgeburtenrate pro begonnenem Zyklus oder pro Embryotransfer feststellen. Andererseits haben mehrere Studien die Auswirkungen von BPA auf die Reproduktions- und Schwangerschaftsergebnisse von Frauen untersucht (Galloway et al., 2010; Mok-Lin et al., 2010; Bloom et al., 2011a; Fujimoto et al., 2011; Ehrlich et al., 2012a,b).

Minguez-Alarco'n et al. (2015) berichteten, dass bei Frauen, die sich einer In-vitro-Fertilisation (IVF) unterzogen, die BPA-Konzentrationen im Urin in umgekehrtem Zusammenhang mit den Estradiol-Spitzenwerten im Serum, der Anzahl der Eizellen bei der Entnahme (insgesamt und reif) und der Anzahl der normal befruchteten Eizellen standen (Mok-Lin et al., 2010; Ehrlich et al., 2012b).

Verschiedene Studien deuten darauf hin, dass sich BPA negativ auf die Ergebnisse der medizinisch unterstützten Fortpflanzung auswirken könnte. Insbesondere wurde die BPA-Exposition mit einem Rückgang der E2-Produktion und der Anzahl der nach der Stimulation der Eierstöcke gewonnenen Eizellen sowie mit einem Anstieg der Implantationsfehler in Verbindung gebracht (für eine Übersicht siehe Pivonello, et al., 2020). Nach den Ergebnissen von Ding et al. (2017) ist die Verschlechterung der Oozytenqualität durch BPA bei Mäusen eine Folge von oxidativem Stress (Acuña-Hernández et al., 2018). Bloom et al. (2011a) untersuchten den Zusammenhang zwischen Serum-BPA-Spiegeln und der ovariellen Reaktion auf exogene Gonadotropinstimulation bei Frauen (n=44) im reproduktionsfähigen Alter, die sich einer medizinisch unterstützten Reproduktion unterzogen. Es wurde ein inverser Zusammenhang zwischen den BPA-Serumspiegeln und den E2-Spitzenwerten festgestellt, was zu der Hypothese führte, dass die BPA-Exposition die E2-Produktion während der Gonadotropin-Stimulation beeinflussen könnte (Bloom et al., 2011a).

Mok-Lin et al. (2010) fanden in einer prospektiven Kohortenbeobachtungsstudie (n=84) mit Frauen, die sich einer medizinisch unterstützten Reproduktion unterzogen, einen umgekehrten Zusammenhang zwischen den BPA-Spiegeln im Urin, dem E2-Spitzenwert und der Anzahl der nach der Gonadotropinstimulation gewonnenen Eizellen (für jede Log-Einheit Anstieg der BPA-Spiegel gab es einen durchschnittlichen Rückgang der Anzahl der gewonnenen Eizellen um 12 %). Außerdem sank der E2-Spiegel nach der Gonadotropin-Stimulation um durchschnittlich 213 pg/ml (Mok-Lin et al., 2010). Sabry et al. (2021b) berichteten über eine schlechte Oozytenreifung und Embryoqualität, basierend auf niedrigeren Teilungs- und Blastozystenraten nach einer In-vitro-BPA-Behandlung von Rinder-Oozyten (Sabry et al., 2021b).

Weitere Studien derselben Gruppen ergaben einen verstärkten embryonalen Arrest, insbesondere im 2-4-Zell-Stadium, eine erhöhte DNA-Fragmentierung und eine veränderte Expression des Anti-Mullerian-Hormons sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene nach BPA-Exposition (Saleh et al., 2021). Bei Nagetieren und Lämmern, die postnatal BPA ausgesetzt waren, war die ovarielle Follikelreserve reduziert, mit "einem Rückgang des Bestands an Primordialfollikeln, einem Anstieg der antralen

atretischen Follikel, einer höheren Inzidenz multipler Oozytenfollikel und einem geringeren Ovarialgewicht" (Chao et al., 2012). Schließlich hat sich gezeigt, dass die BPA-Exposition auch die Expression von Connexin-37 in Granulosazellen beeinträchtigt, dass für die Kommunikation zwischen Kumulus und Oozyten notwendig ist (Sabry et al., 2021a). Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen berichten zwei experimentelle Studien über keine Auswirkungen von niedrigen oder hohen BPA-Dosen (122 mg/kg/Tag) auf die Anzahl der Implantationsstellen (Crawford und de Catanzaro, 2012; Ehrlich et al., 2012a). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie stimmen mit denen von Buck Louis et al. überein, die keinen Zusammenhang zwischen der Gesamtkonzentration von BPA im Urin und einer beeinträchtigten Fruchtbarkeit bei gesunden Frauen fanden (Buck Louis et al., 2014). Außerdem wurde kein Zusammenhang zwischen der BPA-Exposition und der Zeit bis zur Schwangerschaft (TTP) gefunden (Vélez et al., 2015; Pivonello et al., 2020).

5.5 Schlussfolgerung

Den erhaltenen Ergebnissen zufolge gibt es eine Korrelation zwischen der BPA Konzentration in der Follikelflüssigkeit und im Serum mit dem ART Outcome. Es bestehen erhöhte BPA Konzentrationen bei den Patientinnen, bei denen keine Schwangerschaft eingeleitet werden konnte, wobei die statistische Signifikanz knapp verfehlt wurde.

Für die MDA-Konzentrationen ergaben sich qualitativ ähnliche Befunde wie bei den BPA-Konzentrationen. Die mittleren Konzentrationen lagen im Serum gut doppelt so hoch wie in der Follikelflüssigkeit; bei Gravida-negativen Frauen fanden sich etwas höhere Werte als bei den Gravida-positiven. Die Differenzen erreichen wiederum keine statistische Signifikanz; anders als in Bezug auf BPA lag nun allerdings keine statistisch belegbare Tendenz vor.

In Bezug auf die Fertilitätsursache konnte lediglich eine statistische Tendenz zwischen der Infertilitätsursache mit dem höchsten und der Infertilitätsursache dem niedrigsten BPA-Durchschnittswert aufgezeigt werden (idiopathisch vs. pathol. Zyklus; $13,8 \pm 3,0$ vs. $12,0 \pm 3,4$; $p=0,076$)

Bei anderen Parametern konnte kein positiver signifikanter Zusammenhang zwischen der PBA-, ROS- und MDA Konzentration im Serum oder im FF festgestellt werden. Hier wurden ebenso allenfalls Tendenzen festgestellt.

Die vorliegende Studie wirft ein neues Licht auf die komplexen Zusammenhänge zwischen Bisphenol A (BPA) Konzentrationen im Serum und in der Follikelflüssigkeit und deren Auswirkungen bei gesunden Frauen im reproduktionsfähigen Alter, die sich einer ICSI-Behandlung unterziehen. In dieser Studie wurden das Alter der Frau, der Body-Mas-Index (BMI), die Befruchtungsrates, die Entwicklung

und Einnistung der Embryonen sowie der Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von BPA, MDA und ROS sowie deren Korrelationen zueinander und den klinischen IVF-Ergebnissen untersucht.

Die Ergebnisse dieser Studien sollten dazu beitragen, Ärztinnen, Ärzten und Klinikern im Bereich der assistierten Reproduktion wichtige Informationen zu liefern, um die Risiken besser verstehen zu können, die mit der täglichen Exposition gegenüber diesem endokrinen Disruptor für die IVF/ICSI-Ergebnisse und die daraus resultierenden Nachkommen verbunden sind. Ferner sollte es Anlass zu weiteren Fragestellungen geben, die vielleicht in Zukunft zu so klaren wissenschaftlichen Erkenntnissen führen, um die Exposition gegenüber solch gesundheitsgefährdenden Stoffen zu vermeiden oder zumindest noch weiter deutlich zu reduzieren. Zu letzterem sind weitere Forschung und Untersuchungen nötig, damit über die entsprechenden gesundheitspolitischen Behörden auf die Industrie Einfluß genommen werden kann.

Es besteht deshalb nach wie vor ein großer Bedarf an entsprechend konzipierten epidemiologischen Studien, mit angemessener Stichprobengröße um einen begründeten Umgang mit Bisphenol A und anderen endokrinen Disruptoren empfehlen zu können.

Beschränkungen:

Die relativ kleine Stichprobengröße ist eine wesentliche Einschränkung dieser Studie, die es uns nicht erlaubt, endgültige, belastbare Schlussfolgerungen zu ziehen. Zum einen wurden die Ernährungsgewohnheiten unserer Teilnehmer nicht überwacht und auch der aus der Literatur bereits bekannte, wichtige Zeitpunkt der Exposition zu BPA nicht berücksichtigt.

6. Literaturverzeichnis

Acconcia F; Pallottini V; and Marino M; 2 Molecular Mechanisms of Action of BPA. Dose-Response: An International Journal October-December 2015:1-9 ^a The Author(s) 2015 DOI: 10.1177/1559325815610582

Acevedo N, Davis B, Schaeberle CM, Sonnenschein C, Soto AM. Perinatally administered bisphenol a as a potential mammary gland carcinogen in rats. *Environ Health Perspect.* 2013 Sep;121(9):1040-6. doi: 10.1289/ehp.1306734. Epub 2013 Jul 23. PMID: 23876597; PMCID: PMC3764091.

Acuña-Hernández DG, Arreola-Mendoza L, Santacruz Márquez R, García-Zepeda SP, Parra-Forero LY, Olivares-Reyes JA, et al. Bisphenol A alters oocyte maturation by prematurely closing gap junctions in the cumulus cell-oocyte complex. *Toxicol Appl Pharmacol* 2018; 344: 13-22.

Adamkovicova, M., Toman, R., Cabaj, M., Massanyi, P., Martiniakova, M., Omelka, R., Duranova, H. (2014). Effects of subchronic exposure to cadmium and diazinon on testis and epididymis in rats. *ScientificWorldJournal*, 2014, 632581.

Adoamnei, E., Mendiola, J., Vela-Soria, F., Fernández, M. F., Olea, N., Jørgensen, N., Torres-Cantero, A. M. (2018). Urinary bisphenol A concentrations are associated with reproductive parameters in young men. *Environmental Research*, 161, 122–128.

Agarwal A, Saleh RA and Bedaiwy MA (2003) Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 79,829–843.

Agarwal A, Allamaneni SS: Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reprod Biomed Online* 2004, 9:338-347.

Agarwal A, Gupta S, Sharma R. Oxidative stress and its implications in female infertility—a clinician's perspective. *Reprod BioMed Online.* 2005; 11:641–650. doi: 10.1016/S1472-6483(10)61174-1.

Agarwal A, Zitz TM, Bedaiwy MA, Banerjee J, Alvarez JG. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. *Fertility Sterility*. 2006; 86:503–512.
doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.02.088.

Agarwal A., Makker K., Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol*, 59 (2008), pp. 2-11

Agarwal, A.; Aponte-Mellado, A.; Premkumar, B.J.; Shaman, A.; Gupta, S. The effects of oxidative stress on female reproduction: A review. *Reprod. Biol. Endocrinol.* (2012)

Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA: Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003, 79: 829-843.77.

Aghajanova L, Giudice LC: Effect of bisphenol A on human endometrial stromal fibroblasts in vitro. *Reprod Biomed Online* 2011, 22:249–56.

Aghajanova L, Hamilton A, Kwintkiewicz J, Vo KC, Giudice LC. Steroidogenic enzyme and key decidualization marker dysregulation in endometrial stromal cells from women with versus without endometriosis. *Biol Reprod*. 2009 Jan;80(1):105-14. doi: 10.1095/biolreprod.108.070300. Epub 2008 Sep 24. PMID: 18815356

Ahmed Ebbiary N.A. Lenton E.A. Cooke I.D. Hypothalamic-pituitary ageing: progressive increase in FSH and LH concentrations throughout the reproductive life in regularly menstruating women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1994; 41: 199- 206.

Aitken, R.J.; Clarkson, J.S. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J. Reprod. Fertil*. 1987, 81, 459–469.

Akin L et al. The endocrine disruptor bisphenol A may play a role in the aetiopathogenesis of polycystic ovary syndrome in adolescent girls. *Acta Paediatr.* (2015)

Akingbemi BT, Sottas CM, Koulova AI, Klinefelter GR, Hardy MP (2004) Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. *Endocrinology* 145:592–603

Al-Gubory, Kais H., et al. "Antioxidant enzymatic defence systems in sheep corpus luteum throughout pregnancy." *Reproduction* 128.6 (2004): 767-774.

Alonso-Magdalena P, Laribi O, Ropero AB, Fuentes E, Ripoll C, Soria B, Nadal A: Low doses of bisphenol A and diethylstilbestrol impair Ca²⁺ signals in pancreatic alpha-cells through a nonclassical membrane estrogen receptor within intact islets of Langerhans. *Environ Health Perspect* 2005, 113:969–77.

Alonso-Magdalena P, Ropero AB, Carrera MP, Cederroth CR, Baquie M, Gauthier BR, et al. Pancreatic insulin content regulation by the estrogen receptor α . *PLoS ONE* (2008) 3:e2069. 10.1371/journal.pone.0002069

Alviggi, Carlo, et al. "The distribution of stroma and antral follicles differs between insulin-resistance and hyperandrogenism-related polycystic ovarian syndrome." *Frontiers in Endocrinology* 8 (2017): 117.

Angle, Brittany M., et al. "Metabolic disruption in male mice due to fetal exposure to low but not high doses of bisphenol A (BPA): evidence for effects on body weight, food intake, adipocytes, leptin, adiponectin, insulin and glucose regulation." *Reproductive toxicology* 42 (2013): 256-268.

Appasamy M, Jauniaux E, Serhal P, Al-Qahtani A, Groome NP, Muttukrishna S. Evaluation of the relationship between follicular fluid oxidative stress, ovarian hormones, and response to gonadotropin stimulation. *Fertil Steril*. 2008 Apr; 89(4):912-21. doi: 10.1016/j.fertnstert. 2007.04.034. Epub 2007 Aug 6. PMID: 17681319.

Arnold SM, Clark KE, Staples CA, Klecka GM, Dimond SS, Caspers N and Hentges SG: Relevance of drinking water as a source of human exposure to bisphenol a. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 23(2): 137-144, 2013. PMID: 22805988. DOI: 10.1038/jes.2012.66

Aruoma, Okezie I., and Barry Halliwell. "Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation?." *Biochemical Journal* 241.1 (1987): 273-278.

Asami, S.; Manabe, H.; Miyake, J.; Tsurudone, Y.; Hirano, T. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of human lung. *Carcinogenesis* 1997, 18, 1763-1766.

Ascenzi, Paolo, Alessio Bocedi, and Maria Marino. "Structure–function relationship of estrogen receptor α and β : Impact on human health." *Molecular aspects of medicine* 27.4 (2006): 299-402.

Ashby, John, H. Tinwell, and J. Haseman. "Lack of effects for low dose levels of bisphenol A and diethylstilbestrol on the prostate gland of CF1 mice exposed in utero." *Regulatory toxicology and pharmacology* 30.2 (1999): 156-166.

Attaran M, Pasqualotto E, Falcone T, Goldberg JM, Miller KF, Agarwal A, Sharma RK: The effect of follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of in vitro fertilization. *Int J Fertil Womens Med* 2000, 45:314-320.

Attaran, M.; Frasier, J.; Mascha, E.; Radwanska, E.; Rawlins, R.G. The relationship of human granulosa-lutein cell proliferative index to follicular diameter and serum estradiol. *Obstet. Gynecol.* 1998, 91, 449–453.

Aydin, Y., & Erkan, M. (2017). The toxic effects of polychlorinated biphenyl (Aroclor 1242) on Tm3 Leydig cells. *Toxicology and Industrial Health*, 33(8), 636–645.

Baker M.A., Aitken R.J. Reactive oxygen species in spermatozoa: methods for monitoring and significance for the origins of genetic disease and infertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2005; 29: 3-67

Baker S.E., Ellwood SA, Tagarielli VL, Macdonald DW (2012) Mechanical Performance of Rat, Mouse and Mole Spring Traps, and Possible Implications for Welfare Performance. *PLoS ONE* 7(6): e39334. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039334>

Balakrishnan B, Henare K, Thorstensen EB, Ponnampalam AP, Mitchell MD. Transfer of bisphenol A across the human placenta. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010;202(4):393.e1-7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.01.025>.

Barrionuevo, Marcelo J. et al., "Nitric Oxide (NO) and Interleukin-1 β (IL-1 β) in Follicular Fluid and Their Correlation with Fertilization and Embryo Cleavage." *American Journal of Reproductive Immunology* 44.6 (2000): 359-364.

Barygina, V.; Becatti, M.; Lotti, T.; Moretti, S.; Taddei, N.; Fiorillo, C. Treatment with low-dose cytokines reduces oxidative-mediated injury in perilesional keratinocytes from vitiligo skin. *J. Dermatol. Sci.* 2015, 79, 163–170.

Becatti, M.; Emmi, G.; Silvestri, E.; Bruschi, G.; Ciucciarelli, L.; Squatrito, D.; Vaglio, A.; Taddei, N.; Abbate, R.; Emmi, L.; et al. Neutrophil activation promotes fibrinogen oxidation and thrombus formation in behçet disease. *Circulation* 2016, 133, 302–311

Becker K., Thomas Güen, Margarete Seiwert, Andre Conrad, Helga Pick-Fuß, Johannes Müller, Matthias Wittassek, Christine Schulz, Marike Kolossa-Gehring, GerES IV: Phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, Volume 212, Issue 6, 2009

Bedaiwy M. Agarwal A. Said T.M. Goldberg J.M. Sharma R.K. Worley S. et al. Role of total antioxidant capacity in the differential growth of human embryos in vitro. *Fertil Steril.* 2006; 86: 304-309

Bedaiwy MA, Falcone T, Mohamed MS et al. 2004 Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species. *Fertility and Sterility* 82, 593–600.

Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S. Oxidative stress and the ovary. *J Soc Gynecol Investig.* 2001;8: S40–42. doi: 10.1016/S1071-5576(00)00106-4.

Berker, B.; Kaya, C.; Aytac, R.; Satiroglu, H. Homocysteine concentrations in follicular fluid are associated with poor oocyte and embryo qualities in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction. *Hum. Reprod.* 2009, 24, 2293–2302.

Berger, R.G., Shaw, J., deCatanzaro, D., 2008. Impact of acute bisphenol-A exposure upon intrauterine implantation of fertilized ova and urinary levels of progesterone and 17beta-estradiol. *Reprod. Toxicol.* 26, 94–99.

Berger, R.G., Hancock, T., deCatanzaro, D., 2007. Influence of oral and subcutaneous bisphenol-A on intrauterine implantation of fertilized ova in inseminated female mice. *Reprod. Toxicol.* 23, 138– 144.

Best D, Avenell A, Bhattacharya S. How effective are weight-loss interventions for improving fertility in women and men who are overweight or obese? A systematic review and meta-analysis of the evidence. *Hum Reprod Update.* 2017;23(6):681–705

Bhandari et al., Urinary Bisphenol A and Obesity in US Children, *American Journal of Epidemiology*, Volume 177, Issue 11, 1 June 2013, Pages 1263–1270, <https://doi.org/10.1093/aje/kws391>

Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE: Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev* 2014; 94: 329-354.

Binder AM, Corvalan C, Pereira A, Calafat AM, Ye X, Shepherd J and Michels KB: Prepubertal and pubertal endocrine-disrupting chemical exposure and breast density among chilean adolescents. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 27(12): 1491-1499, 2018.

Birnbaum LS, Fenton SEJEhp (2003) Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environ Health Perspect* 111(4):389–394

Biro FM and Deardorff J: Identifying opportunities for cancer prevention during preadolescence and adolescence: Puberty as a window of susceptibility. *J Adolesc Health* 52(5 Suppl): S15-20, 2013.

Bi Y, Wang W, Xu M, Wang T; Lu J, et al., Diabetes Genetic Risk Score Modifies Effect of Bisphenol A Exposure on Deterioration in Glucose Metabolism, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 101, Issue 1, 1 January 2016, Pages 143–150, <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3039>

Van Blerkom, Jonathan. "Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence." *Mitochondrion* 11.5 (2011): 797-813.

Bloom MS, Kim D, vom Saal FS, Taylor JA, Cheng G, Lamb JD, Fujimoto VY. Bisphenol A exposure reduces the estradiol response to gonadotropin stimulation during in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 2011a; 96:672–677. doi 10.1016/j.fertnstert.2011a.06.063.

Bloom MS, vom Saal FS, Kim D, Taylor JA, Lamb JD, Fujimoto VY. Serum unconjugated bisphenol A concentrations in men may influence embryo quality indicators during in vitro fertilization. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2011b; 32:319–323. doi 10.1016/j.etap. 2011.06.003.

Blumberg B, Iguchi T, Odermatt A. Endocrine disrupting chemicals. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011 Oct;127(1–2):1–3. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2.011.07.012>

Bolli A, Bulzomi P, Galluzzo P, Acconcia F, Marino M. Bisphenol A impairs estradiol-induced protective effects against DLD-1 colon cancer cell growth. *IUBMB Life*. 2010; 62(9):684-687.

Bolli A, Galluzzo P, Ascenzi P, et al. Laccase treatment impairs bisphenol A-induced cancer cell proliferation affecting estrogen receptor α -dependent rapid signals. *IUBMB Life* 2008; 60(12): 843-852.

Bolli A. et al. "Bisphenol A impairs estradiol-induced protective effects against DLD-1 colon cancer cell growth." *IUBMB life* 62.9 (2010): 684-687.

Bonefeld-Jorgensen EC, Long M, Hofmeister MV, Vinggaard AM. Endocrine-disrupting potential of bisphenol A, bisphenol A dimethacrylate, 4-n-nonylphenol, and 4-n-octylphenol in vitro: new data and a brief review. *Environ Health Perspect* 115 Suppl. 2007; 1: 69–76. pmid:18174953

Borjac J., Manal El Joumaa, Lobna Youssef, Rawan Kawach, Diane A. Blake, "Quantitative Analysis of Heavy Metals and Organic Compounds in Soil from Deir Kanoun Ras El Ain Dump, Lebanon", *The Scientific World Journal*, vol. 2020, Article ID 8151676, 10 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/8151676>

Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J*, 134 (1973), pp. 707-716

Boyd NF, Byng JW, Jong RA, Fishell EK, Little LE, Miller AB, Lockwood GA, Trichler DL and Yaffe MJ: Quantitative classification of mammographic densities and breast cancer risk: Results from the canadian national breast screening study. *J Natl Cancer Inst* 87(9): 670-675, 1995. PMID: 7752271. DOI: 10.1093/jnci/87.9.670

Boyd NF, Martin LJ, Bronskill M, Yaffe MJ, Duric N and Minkin S: Breast tissue composition and susceptibility to breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 102(16): 1224-1237, 2010. PMID: 20616353. DOI: 10.1093/jnci/djq239

Bpa in plastic. Food Safety Agency (UK), London, 2018. 1st of May, 2019. Available at: <https://www.food.gov.uk/safetyhygiene/bpa-in-plastic>.

Bredhult C, Sahlin L, Olovsson M: Gene expression analysis of human endometrial endothelial cells exposed to Bisphenol A. *Reprod Toxicol* 2009, 28:18–25.

Brewer, Christopher J., and Adam H. Balen. "Focus on obesity." *Reproduction* 140.3 (2010): 347-64.

Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 142. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659>

Briño-Enríquez MA, Reig-Viader R, Cabero L, Toran N, Martínez F, Roig I, Garcia Caldés M: Gene expression is altered after bisphenol A exposure in human fetal oocytes in vitro. *Mol Human Reprod* 2012, 18:171–83.

Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. Ovarian aging: mechanisms and clinical consequences. *Endocr Rev.* 2009;30(5):465-493

Bromer JG, Zhou Y, Taylor MB, Doherty L, Taylor HS. Bisphenol-A exposure in utero leads to epigenetic alterations in the developmental programming of uterine estrogen response. *FASEB J.* 2010; 24:2273–80. doi: 10.1096/fj.09-140533.

Buck Louis GM, Peterson CM, Chen Z, Croughan M, Sundaram R, Stanford J, Varner MW, Kennedy A, Giudice L, Fujimoto VY, Sun L, Wang L, Guo Y, Kannan K: Bisphenol A and phthalates and endometriosis: the Endometriosis: Natural History, Diagnosis and Outcomes Study. *Fertil Steril* 2013, 100:162–9.

Buck Louis GM, Sundaram R, Sweeney AM, Schisterman EF, Maisog J, Kannan K. Urinary bisphenol A, phthalates, and couple fecundity: The Longitudinal Investigation of Fertility and the Environment (LIFE) Study. *Fertil Steril.* 2014 May;101(5):1359-66. doi: 10.1016/j.fertnstert. 2014.01.022. Epub 2014 Feb 15.

Buck Louis, G. M., Smarr, M. M., Sun, L., Chen, Z., Honda, M., Wang, W., Kannan, K. (2018). Endocrine disrupting chemicals in seminal plasma and couple fecundity. *Environmental Research*, 163, 64–70.

Bulzomi P, Marino M. Environmental endocrine disruptors: does a sex-related susceptibility exist? *Front Biosci (Landmark Ed)*.2011;16:2478-2498

Burton GJ, Hempstock J, Jauniaux E: Oxygen, early embryonic metabolism and free radical-mediated embryopathies. *Reprod Biomed Online* 2003, 6:84-96.

Cagen, S. Z., Waechter Jr, J. M., Dimond, S. S., Breslin, W. J., Butala, J. H., Jekat, F. W., Harris, L. R. (1999). Normal reproductive organ development in Wistar rats exposed to bisphenol A in the drinking water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 30(2), 130-139.

Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA and Needham LL: Exposure of the u.S. Population to bisphenol a and 4-tertiaryoctylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect* 116(1): 39-44, 2008. PMID: 18197297. DOI: 10.1289/ehp.10753

Can A, Semiz O, Cinar O. Bisphenol-a induces cell cycle delay and alters centrosome and spindle microtubular organization in oocytes during meiosis. *Mol Hum Reprod*. 2005;11(6):389–96. <https://doi.org/10.1093/molehr/gah179>.

Cantonwine, D. E., Hauser, R., & Meeker, J. D. (2013). Bisphenol A and human reproductive health. *Expert review of obstetrics & gynecology*, 8(4), 329-335.

Cariou R, Antignac JP, Zalko D, et al. Exposure assessment of French women and their newborns to tetrabromobisphenol-A: occurrence measurements in maternal adipose tissue, serum, breast milk and cord serum. *Chemosphere*. 2008; 73(7): 1036-1041.

Casals-Casas C, Desvergne BJ Arop (2011) Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol* 73:135–162 3.

Caserta D, Maranghi L; Mantovani A et al., Impact of endocrine disruptor chemicals in gynaecology, *Human Reproduction Update*, Volume 14, Issue 1, January/February 2008, Pages 59–72, <https://doi.org/10.1093/humupd/dmm025>

Caserta D, Bordi G, Ciardo F, Marci R, La Rocca C, Tait S, Bergamasco B, Stecca L, Mantovani A, Guerranti C, Fanello EL, Perra G, Borghini F, Focardi SE, Moscarini M: The influence of endocrine disruptors in a selected population of infertile women. *Gynecol Endocrinol* 2013, 29:444–7.

Caserta D, Ciardo F, Bordi G, Guerranti C, Fanello E, Perra G, Borghini F, La Rocca C, Tait S, Bergamasco B, Stecca L, Marci R, Lo Monte G, Soave I, Focardi S, Mantovani A, Moscarini M: Correlation of endocrine disrupting chemicals serum levels and white blood cells gene expression of nuclear receptors in a population of infertile women. *Int J Endocrinol* 2013, 2013:510703.

Caserta D, Mantovani A, Marci R, Fazi A, Ciardo F, La Rocca C, Maranghi F, Moscarini M: Environment and women's reproductive health. *Human Reprod Update* 2011, 17:418–33.

Casey SC, et al., The effect of environmental chemicals on the tumor microenvironment. *Carcinogenesis* 36: S160-183, 2015.

Cauley, Jane A. "Estrogen and bone health in men and women." *Steroids* 99 (2015): 11-15.

Cetinkaya MB, Siano LJ, Benadiva C, Sakkas D, Patrizio P. Reproductive outcome of women 43 years and beyond undergoing ART treatment with their own oocytes in two Connecticut university programs. *J Assist Reprod Genet.* (2013) 30:673–8. [10.1007/s10815-013-9981-5](https://doi.org/10.1007/s10815-013-9981-5)

Chandra A, Surti N, Kesavan S, Agarwal A. Significance of oxidative stress in human reproduction. *Arch Med Sci.* 2009;5(1A): S28–S42.

Chao HH, Zhang XF, Chen B, Pan B, Zhang LJ, Li L, Sun XF, Shi QH, Shen W. Bisphenol A exposure modifies methylation of imprinted genes in mouse oocytes via the estrogen receptor signaling pathway. *Histochem Cell Biol.* 2012 Feb;137(2):249-59. doi: 10.1007/s00418-011-0894-z. Epub 2011 Dec 1. PMID: 22131059.

Chen, H., Li, J., Cai, S. et al. Impact of body mass index (BMI) on the success rate of fresh embryo transfer in women undergoing first in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection (IVF/ICSI) treatment. *Int. J. Obes.* (2021). <https://doi.org/10.1038/s41366-021-00978-0>

Cheong A, Johnson SA, Howald EC, Ellersieck MR, Camacho L, Lewis SM, Vanlandingham MM, Ying J, Ho SM, Rosenfeld CS (2018) Gene expression and DNA methylation changes in the hypothalamus and hippocampus of adult rats developmentally exposed to bisphenol A or ethinyl estradiol: a CLARITY-BPA consortium study. *Epigenetics* 13:704–720. <https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1497388>

Cobellis, L.; Colacurci, N.; Trabucco, E.; Carpentiero, C.; Grumetto, L. Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from healthy and endometriotic women. *Biomed. Chromatogr.* 2009, 23, 1186–1190.

Colagar, A. Hosseinzadeh. "Cigarette Smoking and the Risk of Male Infertility* A. Hosseinzadeh Colagar,* GA Jorsaraee and" E. Tahmasbpour Marzony" Department of Biology, Faculty of Basic Science, Mazandaran University, Babolsar, Iran "Department of Fertility and Infertility, Fateme Zahra Hospital." *Pakistan journal of biological sciences* 10.21 (2007): 3870-3874.

Colborn T, Clement C, eds. Wingspread Consensus Statement: chemically induced alterations in sexual and functional development: the human/wildlife connection. In: Princeton, NJ: Princeton Scientific Publishing; 1992: 1–8

Colborn T, Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, Lucier G, Luster M, Mac MJ, Maczka C, Miller R, Moore J, Rolland R, Scott G, Sheehan DM, Sinks T, Tilson HA. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect.* 1993 Aug; 104 Suppl 4():715-40.

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect.* 2011; 101: 378–384.

Combelles, C. M., Gupta, S., & Agarwal, A. (2009). Could oxidative stress influence the in-vitro maturation of oocytes? *Reproductive biomedicine online*, 18(6), 864-880.

Comhaire, F. H., et al. "Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint." *Human Reproduction Update* 5.5 (1999): 393-398.

Crawford BR, Decatanzaro D. Disruption of blastocyst implantation by triclosan in mice: impacts of repeated and acute doses and combination with bisphenol-A. *Reprod Toxicol.* 2012 Dec;34(4):607-13. doi: 10.1016/j.reprotox.2012.09.008. Epub 2012 Oct 8. PMID: 23059059

Crha I, Hrubá D, Ventruba P, Fiala J, Totusek J, Visnova H: Ascorbic acid and infertility treatment. *Cent Eur J Public Health* 2003, 11:63-67.

Cui W (2010) Mother or nothing: the agony of infertility. *Bull World Health Organ* 88:881–882.

Dallio M, Masarone M, Errico S, Gravina AG, Nicolucci C, Di Sarno R, Gionti L, Tuccillo C, Persico M, Stiuso P, Diano N, Loguercio C, Federico A. Role of bisphenol A as environmental factor in the promotion of non-alcoholic fatty liver disease: in vitro and clinical study. *47, 6: 2018, 826-837.* <https://doi.org/10.1111/apt.14499>

Dankers, A. C. A., Roelofs, M. J. E., Piersma, A. H., Sweep, F. C. G. J., Russel, F. G. M., van den Berg, M., Masereeuw, R. (2013). Endocrine disruptors differentially target ATP-binding cassette transporters in the blood-testis barrier and affect Leydig cell testosterone secretion in vitro. *Toxicological Sciences*, 136(2), 382–391.

Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta, P., Durairajanayagam, D., Henkel, R., & Sadeghi, M. R. (2018). Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 87.

Das S., Chattopadhyay R., Ghosh S., Ghosh S., Goswami S.K., Chakravarty B.N., et al. Reactive oxygen species level in follicular fluid—embryo quality marker in IVF?. *Hum Reprod*. 2006; 21: 2403-2407

de Bruin JP, Dorland M, Spek ER, Posthuma G, van Haaften M, Looman CW, te Velde ER: Ultrastructure of the resting ovarian follicle pool in healthy young women. *Biol Reprod* 2002, 66:1151-1160.

DelCurto, H., Wu, G., & Satterfield, M. C. (2013). Nutrition and reproduction: links to epigenetics and metabolic syndrome in offspring. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 16(4), 385-391.

Del Rio, D., Stewart, A. J., & Pellegrini, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 15(4), 316–328. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2005.05.003>

Delfosse V, Grimaldi M, Pons JL, Boulahtouf A, le Maire A, Cavailles V, et al. Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol A substitutes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012; 109: 14930–14935. pmid: 22927406

den Braver-Sewradj SP, van Spronsen R, Hessel EVS (2020) Substitution of bisphenol A: a review of the carcinogenicity, reproductive toxicity, and endocrine disruption potential of alternative substances. *Crit Rev Toxicol* 50:128–147. <https://doi.org/10.1080/10408444.2019.1701986>

Devine, P.J.; Perreault, S.D.; Luderer, U. Roles of reactive oxygen species and antioxidants in ovarian toxicity. *Biol. Reprod.* 2012, 86. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]

Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2009; 30: 293–342. pmid:19502515

Dianin A.P. Condensation of ketones with phenols. *Zhurnal Russkogo Fiziko-Khimicheskogo Obshchestva. J. Russ. Phys. Chem. Soc. St. Petersburg.* 1891;23(488–517):601–611. (523–546)

Dicker D, Goldman JA, Ashkenazi J, et al. Age and pregnancy rates in in-vitro fertilization. *J In Vitro Fert Embryo Transf.* 1991; 8:141–4.

Ding Z-M, Xiao-Fei Jiao, Di Wu, Jia-Yu Zhang, Fan Chen, Yong-Sheng Wang, Chun-Jie Huang, Shou-Xin Zhang, Xiang Li, Li-Jun Huo, Bisphenol AF negatively affects oocyte maturation of mouse in vitro through increasing oxidative stress and DNA damage, *Chemico-Biological Interactions*, Volume 278, 2017, Pages 222-229, ISSN 0009-2797, <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2017.10.030>.

Dodds E and Lawson W: Synthetic oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature* 137(3476): 996, 1936.

Dominguez MA, Petre MA, Neal MS, Foster WG: Bisphenol A concentration-dependently increases human granulosa-lutein cell matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) enzyme output. *Reprod Toxicol* 2008, 25:420–5.

Drobná, Zuzana, et al. "Transgenerational effects of bisphenol A on gene expression and DNA methylation of imprinted genes in brain." *Endocrinology* 159.1 (2018): 132-144.

Du Plessis, Stefan S., et al. "Impact of oxidative stress on IVF." *Expert review of obstetrics & gynecology* 3.4 (2008): 539-554.

Dumesic, Daniel A., et al. "Oocyte environment: follicular fluid and cumulus cells are critical for oocyte health." *Fertility and sterility* 103.2 (2015): 303-316.

Dumollard, Remi, Michael Duchen, and John Carroll. "The role of mitochondrial function in the oocyte and embryo." *Current topics in developmental biology* 77 (2007): 21-49.

Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, Flaws JA, Berry KF, Calafat AM, Ye X, Petrozza JC, Wright D, Hauser R: Urinary bisphenol A concentrations and implantation failure among women undergoing in vitro fertilization. *Environ Health Perspect* 2012a, 120:978–83.

Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, Flaws JA, Ye X, Calafat AM, Petrozza JC, Wright D, Hauser R: Urinary bisphenol A concentrations and early reproductive health outcomes among women undergoing IVF. *Hum Reprod* 2012b, 27:3583–92.

Eichenlaub-Ritter, Ursula, et al. "Exposure of mouse oocytes to bisphenol A causes meiotic arrest but not aneuploidy." *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 651.1-2 (2008): 82-92.

El Mouatassim S, Guerin P, Menezo Y. Expression of genes encoding antioxidant enzymes in human and mouse oocytes during the final stages of maturation. *Mol Hum Reprod*. 1999; 5:720–725. doi: 10.1093/molehr/5.8.720.

Elizur, S.E.; Lebovitz, O.; Orvieto, R.; Dor, J.; Zan-Bar, T. Reactive oxygen species in follicular fluid may serve as biochemical markers to determine ovarian aging and follicular metabolic age. *Gynecol. Endocrinol.* 2014, 30, 705–707.

European Commission, amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of bisphenol A in plastic infant feeding bottles, *Off. J. Eur. L26* (2011)11 5.

European Commission, *Off. J. Eur. Commun. L12* (2011)1

Fainaru O, Almog B, Pinchuk I, Kupfermanc MJ, Lichtenberg D, Many A: Active labour is associated with increased oxidisibility of serum lipids ex vivo. *BJOG* 2002, 109:938-941.

Fatma Karaman E, Caglayan M, Sancar-Bas S, Ozal-Coskun C, ArdaPirincci P, Ozden S (2019) Global and region-specific post-transcriptional and post-translational modifications of bisphenol A in human prostate cancer cells. *Environ Pollut* 255:113318. <https://oi.org/10.1016/j.envpol.2019.113318>

FDA, 2020 The FDA approved BPA for use in food contact materials in 1963 in the absence of any published safety information (FDA., 2020).

Fedorcsak P, Dale PO, Storeng R, Ertzeid G, Bjercke S, Oldereid N, et al. Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Hum Reprod* 2004; 19: 2523-8.

Fernandez M, Bianchi M, Lux-Lantos V, Libertun C: Neonatal exposure to bisphenol A alters reproductive parameters and gonadotropin releasing hormone signalling in female rats. *Environ Health perspect* 2009, 117:757–762.

Fernández M, Bourguignon N, Lux-Lantos V, Libertun C. Neonatal exposure to bisphenol a and reproductive and endocrine alterations resembling the polycystic ovarian syndrome in adult rats. *Environ Health Perspect.* 2010 Sep;118(9):1217-22. doi: 10.1289/ehp.0901257. Epub 2010 Apr 22. PMID: 20413367; PMCID: PMC2944080.

Ferris J, Favetta LA, King WA. Bisphenol a exposure during oocyte maturation in vitro results in spindle abnormalities and chromosome misalignment in *Bos taurus*. *Cytogenet Genome Res.* 2015;145(1):50–8. <https://doi.org/10.1159/000381321>.

Finkel T., Holbrook N. J. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408 239–247. [10.1038/35041687](https://doi.org/10.1038/35041687)

Flint S, Markle T, Thompson S, Wallace E. Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *J Environ Manage.* 2012; 104:19–34. DOI: [10.1016/j.jenvman.2012.03.021](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.021)

Fraga, C. G., et al. "Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 351.2 (1996): 199-203.

Francesco Pallotti F; Pelloni M; Gianfrilli D; Lenzi A; Lombardo F; Paoli D. Mechanisms of Testicular Disruption from Exposure to Bisphenol A and Phtalates. *J. Clin. Med.* 2020, 9(2), 471; <https://doi.org/10.3390/jcm9020471>

Französisches Gesetz Nr. 2012 Abrufbar unter:

https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000026830015?init=true&page=1&query=2012-1442&searchField=ALL&tab_selection=all (Stand:24.03.2023)

Frederick S. vom Saal, Wade V. Welshons: Evidence that bisphenol A (BPA) can be accurately measured without contamination in human serum and urine, and that BPA causes numerous hazards from multiple routes of exposure. In: *Molecular and Cellular Endocrinology*. Band 398, Nr. 1–2, Dezember2014, ISSN 0303-7207, S. 101–113, doi:10.1016/j.mce.2014.09.028, PMID 25304273, PMC 4805123

Fujimoto V. Y., Kim D., vom Saal F. S., Lamb J. D., Taylor J. A., Bloom M. S. Serum unconjugated bisphenol A concentrations in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization. *Fertility and Sterility.* 2011;95(5):1816–1819. doi: [10.1016/j.fertnstert.2010.11.008](https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.11.008).

Galloway T, Cipelli R, Guralnik J, et al. Daily bisphenol A excretion and associations with sex hormone concentrations: results from the InCHIANTI adult population study. *Environ Health Perspect.* 2010;118 (11):1603–1608.

Gao, Y., Mruk, D. D., & Cheng, C. Y. (2015). Sertoli cells are the target of environmental toxicants in the testis - a mechanistic and therapeutic insight. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 19(8), 1073–1090.

Garcia-Pardo L, Granados MD, Gaytan F, Padilla CA, Martinez-Galisteo E, Morales C, Sanchez-Criado JE, Barcena JA: Immunolocalization of glutaredoxin in the human corpus luteum. *Mol Hum Reprod* 1999, 5:914-919.

Gely-Pernot, A., Hao, C., Legoff, L., Multigner, L., D’Cruz, S. C., Kervarrec, C., ... Smagulova, F. (2018). Gestational exposure to chlordecone promotes transgenerational changes in the murine reproductive system of males. *Scientific Reports*, 8(1), 10274.

Gore AC; Chappell VA; Fenton SE; Flaws JA; Nadal A.: EDC-2: The Endocrine Society’s Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. In: *Endocrine Reviews*. Band 36, Nr. 6, 2015, S. E1–E150, doi:10.1210/er.2015-1010

Gould K, Leonard SL, Maness SC, Wagner BL, Conner K, Zacharewski T, et al. Bisphenol A interacts with the estrogen receptor α in a distinct manner from estradiol. *Mol Cell Endocrinol.* 1998; 142: 203

Governini, L., Guerranti, C., De Leo, V., Boschi, L., Luddi, A., Gori, Piomboni, P. (2015). Chromosomal aneuploidies and DNA fragmentation of human spermatozoa from patients exposed to perfluorinated compounds. *Andrologia*, 47(9), 1012–1019.

Grasselli F, Baratta L, Baioni L, Bussolati S, Ramoni R, Grolli S, Basini G: Bisphenol A disrupts granulosa cell function. *Domest Anim Endocrinol* 2010, 39:34–9.

Gregoraszczyk EL, Ptak A: Endocrine-Disrupting Chemicals: Some Actions of POPs on Female Reproduction. *Int J Endocrinol* 2013, 2013:828532.

Guerin P, El Mouatassim S, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update*. 2001; 7:175–189. doi: 10.1093/humupd/7.2.175.

Guo J, Zhao MH, Shin KT, Niu YJ, Ahn YD, Kim NH, et al. The possible molecular mechanisms of bisphenol a action on porcine early embryonic development. *Sci Rep*. 2017;7(1):8632. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09282-2>.

Halliwell B. Gutteridge J.M.C. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd ed. Oxford University Press, New York 1989

Halliwell, B. (1996). Antioxidants in Human Health and Disease. *Annual Review of Nutrition*, 16(1), 33–50. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.16.1.33>

Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*. 2004; 142(2):231-255

Hamad, M. F., et al. "Impact of cigarette smoking on histone (H2B) to protamine ratio in human spermatozoa and its relation to sperm parameters." *Andrology* 2.5 (2014): 666-677.

Hamada A, Esteves SC, Agarwal A (2011) The role of contemporary andrology in unraveling the mystery of unexplained male infertility. *Open Reprod Sci J* 4:27–4

Hammadeh ME, Sykoutris A, Amer AS, Schmidt. Relationship between body mass index (BMI) and plasma lipid concentration and their effect on IVF/ICSI outcome. *Fertil Steril*. 2005; 84(Supplement 1): S422

Hammadeh ME, MF Hamad, M Montenarh, C Fischer-Hammadeh, Protamine contents and P1/P2 ratio in human spermatozoa from smokers and non-smokers, *Human Reproduction*, Volume 25, Issue 11, November 2010, Pages 2708–2720, <https://doi.org/10.1093/humrep/deq226>

Hammer J, Kraak MH, Parsons JR (2012) Plastics in the marine environment: the dark side of a modern gift. *Rev Environ Contam Toxicol* 220:1–44.

Hanafy, Khalid A., Joshua S. Krumenacker, and Ferid Murad. "NO, nitrotyrosine, and cyclic GMP in signal transduction." *Medical Science Monitor* 7.4 (2001): RA801-RA819.

Hannon PR, Flaws JA. The effects of phthalates on the ovary. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015 Feb 2; :8. doi: 10.3389/fendo.2015.00008. PMID: 25699018; PMCID: PMC4313599.

Hannon P. R., Niermann S., Flaws J. A. (2016). Acute exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate in adulthood causes adverse reproductive outcomes later in life and accelerates reproductive aging in female mice. *Toxicol. Sci.* 150, 97–108.

Hao, M., Ding, L., Xuan, L., Wang, T., Li, M., Zhao, Z., Lu, J., Xu, Y., Chen, Y., Wang, W., Bi, Y., Xu, M. and Ning, G. (2018), Urinary bisphenol A concentration and the risk of central obesity in Chinese adults: A prospective study. *Journal of Diabetes*, 10: 442-448. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12531>

Hardy, M. L., Day, M. L., & Morris, M. B. (2021). Redox regulation and oxidative stress in mammalian oocytes and embryos developed in vivo and in vitro. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(21), 11374.

Harma M, Kocyigit A, Demir N: Role of plasma nitric oxide in complete hydatidiform mole. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004, 25:333-335.

Harma M, Kocyigit A: Comparison of protein carbonyl and total plasma thiol concentrations in patients with complete hydatidiform mole with those in healthy pregnant women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004, 83:857-860.

Harvey AJ, Kind KL, Thompson JG 2002 REDOX regulation of early embryo development. *Reproduction* 123, 479–486.

Harwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147–1150. <https://doi.org/10.1042/BST0351147>

Hecht, S.S. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 1999, 91, 1194- 1210.

Heindel, J. J., Blumberg, B., Cave, M., Machtinger, R., Mantovani, A., Mendez, M. A., ... & Vom Saal, F. (2017). Metabolism disrupting chemicals and metabolic disorders. *Reproductive toxicology*, 68, 3-33.

Henkel. RR. Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian J Androl*, 13 (2011), pp. 43-52

Herrero O', Aquilino M, Sa'nchez-Argu'ello P, Planello' R (2018) The BPA-substitute bisphenol S alters the transcription of genes related to endocrine, stress response and biotransformation pathways in the aquatic midge *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae). *PLoS ONE* 13(2): e0193387. <https://doi.org/10.1371/journal>.

Hiroi H, Tsutsumi O, Takeuchi T, Momoeda M, Ikezuki Y, Okamura A, Yokota H, Taketani Y: Differences in serum bisphenol A concentrations in premenopausal normal women and women with endometrial hyperplasia. *Endocr J* 2004, 51:595–600.

Ho SM, Cheong A, Lam HM, Hu WY, Shi GB, Zhu X, Chen J, Zhang X, Medvedovic M, Leung YK, Prins GS (2015) Exposure of human prostatespheres to bisphenol A epigenetically regulates SNORD family noncoding RNAs via histone modification. *Endocrinology* 156: 3984–3995. <https://doi.org/10.1210/en.2015-1067>

Hoekstra EJ, Simoneau C. Release of bisphenol A from polycarbonate: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013;53(4):386-402. doi: 10.1080/10408398.2010.536919. PMID: 23320909.

Hoekstra, E. J., & Simoneau, C. (2013). Release of bisphenol A from polycarbonate—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(4), 386-402.

Hoffman, D.; Hoffmann, I. The changing cigarette, 1950-1995. *J. Toxicol. Environ. Health* 1997, 50, 307-364.

Hong, J., Chen, F., Wang, X., Bai, Y., Zhou, R., Li, Y., & Chen, L. (2016). Exposure of preimplantation embryos to low-dose bisphenol A impairs testes development and suppresses histone acetylation of StAR promoter to reduce production of testosterone in mice. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 427, 101–111.

Hoque E (2019) Evaluation of bisphenol A induced effects on blood biochemical constituents and histology of liver in Swiss albino mice and its 'one health' perspectives. *J Vet Med One Heal Res* 1: 75–83. [https://doi.org/10.36111/jvmohr.2019.1\(1\)0.0007](https://doi.org/10.36111/jvmohr.2019.1(1)0.0007)

Hosen, M., Islam, M., Begum, F., Kabir, Y. and Howlader, M. (2015) Oxidative stress induced sperm DNA damage, a possible reason for male infertility. *Iran J Reprod Med* 13: 525–532.

Hu, Cheng-Yang, et al. "The association between prenatal bisphenol A exposure and birth weight: a meta-analysis." *Reproductive Toxicology* 79 (2018): 21-31.

Huang YQ, Wong CKC, Zheng JS, Bouwman H, Barra R, Wahlström B, Neretin L, Wong MH (2011) Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environ Int* 42:91–99

Huang, M.F.; Lin, W.L.; Ma, Y.C. A study of reactive oxygen species in mainstream of cigarette. *Indoor Air* 2005, 15, 135-140.

Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW, Ben-Jonathan N. Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environ. Health Perspect.* 2008

Hunt PA, Koehler KE, Susiarjo M, Hodges CA, Ilagan A, Voigt RC, et al. Bisphenol a exposure causes meiotic aneuploidy in the female mouse. *Curr Biol.* 2003;13(7):546–53. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(03\)00189-1](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(03)00189-1).

Hunt PA, Lawson C, Gieske M, Murdoch B, Smith H, Marre A, et al. Bisphenol A alters early oogenesis and follicle formation in the fetal ovary of the rhesus monkey. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012; 109: 17525–17530

Huo X., Chen D., He Y., Zhu W., Zhou W., Zhang J. Bisphenol-a and female infertility: a possible role of gene-environment interactions. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 2015a;12(9):11101–11116. doi: 10.3390/ijerph120911101.

Huo, W., Xia, W., Wan, Y., Zhang, B., Zhou, A., Zhang, Y., ... & Xu, S. (2015b). Maternal urinary bisphenol A levels and infant low birth weight: A nested case–control study of the Health Baby Cohort in China. *Environment international*, 85, 96-103.

Hutt P (1982) Regulatory history of DES. *Am Stat* 36 (3):267

Hyslop PA, Hinshaw DB, Halsey WA Jr, Schraufstatter IU, Sauerheber RD, Spragg RG, et al. Mechanisms of oxidant-mediated cell injury. The glycolytic and mitochondrial pathways of ADP phosphorylation are major intracellular targets inactivated by hydrogen peroxide. *J Biol Chem.* 1988; 263: 1665-1675.

Ikezuki Y, Tsutsumi O, Takai Y, Kamei Y, Taketani Y. Determination of bisphenol a concentration in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. *Hum Reprod.* 2002;17(11):2839–41. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.11.2839>

Ishikawa M: Oxygen radicals-superoxide dismutase system and reproduction medicine. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1993, 45:842-848.

Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Sasaki H, Tanaka T, Tsugane S: Urinary bisphenol-A concentration in infertile Japanese women and its association with endometriosis: A cross-sectional study. *Environ Health Prev Med* 2007, 12:258–64.

Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J et al. 2000 Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *American Journal of Pathology* 157, 2111–2122.

Jeng, H. A. (2014). Exposure to endocrine disrupting chemicals and male reproductive health. *Frontiers in Public Health*, 2, 55.

Jozwik M, Wolczynski S, Szamatowicz M. Oxidative stress markers in preovulatory follicular fluid in humans. *Mol Hum Reprod.* 1999; 5:409–413. doi: 10.1093/molehr/5.5.409.

Judy, B. M., Nagel, S. C., Thayer, K. A., Saal, F. S. V., & Welshons, W. V. (1999). Low-dose bioactivity of xenoestrogens in animals: fetal exposure to low doses of methoxychlor and other xenoestrogens increases adult prostate size in mice. *Toxicology and industrial health*, 15(1-2), 12-25.

Jukic, Anne Marie, et al. "Urinary concentrations of phthalate metabolites and bisphenol A and associations with follicular-phase length, luteal-phase length, fecundability, and early pregnancy loss." *Environmental health perspectives* 124.3 (2016): 321-328.

Kandaraki, E.; Chatzigeorgiou, A.; Livadas, S.; Palioura, E.; Economou, F.; Koutsilieris, M.; Palimeri, S.; Panidis, D.; Diamanti-Kandarakis, E. Endocrine disruptors and polycystic ovary syndrome (PCOS): Elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011, 96, 480–484

Karavan JR, Pepling ME: Effects of estrogenic compounds on neonatal oocyte development. *Reprod Toxicol* 2012, 34:51–6.

Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, Fenner-Crisp P, Gray LE, Kaattari S, et al. (1996). Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect* 104(4): 715-740.

Keefe, David L., et al. "Telomere length predicts embryo fragmentation after in vitro fertilization in women—toward a telomere theory of reproductive aging in women." *American journal of obstetrics and gynecology* 192.4 (2005): 1256-1260.

Keefe, D. L., L. Liu, and K. Marquard. "Telomeres and meiosis in health and disease: telomeres and aging-related meiotic dysfunction in women." *Cellular and Molecular Life Sciences* 64 (2007): 139-143.

Keri R.A., Ho S.M., Hunt P.A., Knudsen K.E., Soto A.M., Prins G.S. An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A. *Reprod. Toxicol.* 2007;24(2):240–252.

Khan NG, Correia J, Adiga D, Rai PS, Dsouza HS, Chakrabarty S, Kabekkodu SP. A comprehensive review on the carcinogenic potential of bisphenol A: clues and evidence. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2021 Apr;28(16):19643-19663. doi: 10.1007/s11356-021-13071-w.

Khazaei M, Aghaz F, Reactive Oxygen Species Generation and Use of Antioxidants during In Vitro Maturation of Oocytes. *International Journal of Fertility and Sterility* 11(2):63-70 DOI:10.22074/ijfs.2017.4995

Kim et al., 2020, Predictor for supraphysiologic serum estradiol elevation on hCG triggering day of controlled ovarian stimulation using letrozole and gonadotropins in women with estrogen-dependent cancers. *PLoS One*, 15 (10) (2020), Article e0240870,

Klein N.A., Illingworth P.J. Groome P. McNeilly A.S. Battaglia D.E. Soules M.R. Decreased inhibin B secretion is associated with the monotropic FSH rise in older, ovulatory women: a study of serum and follicular fluid levels of dimeric inhibin A and B in spontaneous menstrual cycles. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996; 81: 2742-2745

Kolšek K., Mavri J., Dolenc MS., Reactivity of bisphenol A-3,4-quinone with DNA. A quantum chemical study, *Toxicology in Vitro*, 10.1016/j.tiv.2011.11.003, 26, 1, (102-106), (2012).

Komarowska M. D., Hermanowicz A., Czyzewska U., et al. Serum bisphenol a level in boys with cryptorchidism: a step to male infertility? *International Journal of Endocrinology*. 2015; 2015:8.973154

Konieczna A, Rutkowska A and Rachon D: Health risk of exposure to bisphenol a (bpa). *Rocz Panstw Zakl Hig* 66(1): 5- 11, 2015. PMID: 25813067

Koning, A. M. H., Kuchenbecker, W. K. H., Groen, H., Hoek, A., Land, J. A., Khan, K. S., & Mol, B. W. J. (2010). Economic consequences of overweight and obesity in infertility: a framework for evaluating the costs and outcomes of fertility care. *Human reproduction update*, 16(3), 246-254.

Kortenkamp A, Martin O, Evans R, et al. Response to A critique of the European Commission Document, “State of the Art Assessment of Endocrine Disrupters” by Rhomberg and colleagues-letter to the editor. *Crit Rev Toxicol* 2012;42(9):787-789. Author reply: 790-791.

Kovacic P., How safe is bisphenol A? Fundamentals of toxicity: Metabolism, electron transfer and oxidative stress, *Medical Hypotheses*, 10.1016/j.mehy.2010.03.002, 75, 1, (1-4), (2010).

Krotz SP, Carson SA, Tomey C, Buster JE. Phthalates and bisphenol do not accumulate in human follicular fluid. *J Assist Reprod Genet.* 2012;29(8):773-777. doi:10.1007/s10815-012-9775-1

Kubwabo C, Kosarac I, Stewart B, Gauthier BR, Lalonde K, Lalonde PJ (2009) Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food Addit Contam - Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 26: 928–937. <https://doi.org/10.1080/02652030802706725>.

Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology.* 1998 Oct; 139(10):4252-63.

Kumar R, V., Balomajumder, C., & Roy, P. (2008). Disruption of LH-induced testosterone biosynthesis in testicular Leydig cells by triclosan: Probable mechanism of action. *Toxicology*, 250(2–3), 124–131.

Kumar R, Venkatesh S, Kumar M, Tanwar M, Shamsi MB, Kumar R, Gupta NP, Sharma RK, Talwar P, Dada R. Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation in idiopathic oligoasthenozoospermic men. *Indian J Biochem Biophys.* 2009; 46:172-77.

Kumar M, Kumar K, Jain S, Hassan T, Dada R (2013) Novel insights into the genetic and epigenetic paternal contribution to the human embryo. *Clinics* 68: 5-14.

Kumar, S. (2018). Occupational and environmental exposure to lead and reproductive health impairment: An overview. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 22(3), 128–137.

Kunsch, C., & Medford, R. M. (1999). Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circulation Research*, 85(8), 753–766.

Kurutas EB. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J*. 2016;15(1):71. Published 2016 Jul 25. doi:10.1186/s12937-016-0186-5 <https://doi.org/10.1161/01.RES.85.8.753>

Kurzawa R, Glabowski W, Baczkowski T, Wiszniewska B, Marchlewicz M: Growth factors protect in vitro cultured embryos from the consequences of oxidative stress. *Zygote*. 2004, 12: 231-240. 10.1017/S0967199404002783

La Rocca, C., Tait, S., Guerranti, C., Busani, L., Ciardo, F., Bergamasco, B., ...Mantovani, A. (2015). Exposure to endocrine disruptors and nuclear receptors gene expression in infertile and fertile men from Italian areas with different environmental features. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(10), 12426–12445.

Lacroix MZ, Puel S, Collet SH, Corbel T, Picard-Hagen N, Toutain PL, Viguié C, Gayraud V. Simultaneous quantification of bisphenol A and its glucuronide metabolite (BPA-G) in plasma and urine: Applicability to toxicokinetic investigations. *Talanta*. 2011; 85:2053–2059. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.07.040.

Lagod L, Paszkowski T, Sikorski R, Rola R: The antioxidantprooxidant balance in pregnancy complicated by spontaneous abortion. *Ginekol Pol* 2001, 72:1073-1078

Langie SA, et al., Causes of genome instability: The effect of low dose chemical exposures in modern society. *Carcinogenesis* 36: S61-88, 2015. PMID: 26106144. DOI: 10.1093/carcin/bgv031

Lashen H, Ledger W, Bernal AL, Barlow D. Extremes of body mass do not adversely affect the outcome of superovulation and in-vitro fertilization. *Hum Reprod* 1999; 14: 712-5.

Lass A, Croucher C, Duffy S, et al. One thousand initiated cycles of in-vitro fertilization in women > or =40 years of age. *Fertil Steril*. 1998; 70:1030-4.

Lassen, T. H., Frederiksen, H., Jensen, T. K., Petersen, J. H., Joensen, U. N., Main, K. M. Andersson, A.-M. (2014). Urinary bisphenol A levels in young men: Association with reproductive hormones and semen quality. *Environmental Health Perspectives*, 122(5), 478-484.

Lawson C, Gieske M, Murdoch B, Ye P, Li Y, Hassold T, Hunt PA: Gene expression in the fetal mouse ovary is altered by exposure to low doses of bisphenol A. *Biol Reprod* 2011, 84:79-86.

Le HH, Carlson EM, Chua JP, Belcher SM. Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicol Lett*. 2008 Jan 30; 176(2):149-56.

le Maire A, Bourguet W, Balaguer P. A structural view of nuclear hormone receptor: endocrine disruptor interactions. *Cell Mol Life Sci*. 2010; 67: 1219-1237. pmid:20063036

Leaderson, P.; Tagesson, C. Cigarette smoke-induced DNA damage in cultured human cells: role of hydroquinone and catechol in the formation of oxidative DNA-adduct, 8- hydroxydeoxyguanosine. *Chem.-Biol. Interact*. 1990, 75, 71-81.

Lee HR, Kim T-H, Choi K-C (2012) Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ER α and ER β , identified by estrogen receptor knockout mouse. *Lab Anim Res* 28:71. <https://doi.org/10.5625/lar.2012.28.2.71>

Lee SG, Kim JY, Chung JY, Kim YJ, Park JE, Oh S, Yoon YD, Yoo KS, Yoo YH, Kim JM: Bisphenol A exposure during adulthood causes augmentation of follicular atresia and luteal regression by

decreasing 17 β -estradiol synthesis via downregulation of aromatase in rat ovary. *Environ Health Perspect* 2013, 121:663–9.

Lee, HW., Ha, S.K. & Kim, Y. Bisphenol A disrupts inflammatory responses via Nod-like receptor protein 3 pathway in macrophages. *Appl Biol Chem* 63, 78 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00562-6>

Legge A, Bouzayen R, Hamilton L, Young D. The impact of maternal body mass index on in vitro fertilization outcomes. *J Obstet Gynaecol Can.* 2014; 36:613–9.

Legler et al, Obesity, Diabetes, and Associated Costs of Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals in the European Union, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 100, Issue 4, April 2015, Pages 1278–1288, <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4326>

Lenie S, Cortvrindt R, Eichenlaub-Ritter U, Smits J. Continuous exposure to bisphenol A during in vitro follicular development induces meiotic abnormalities. *Mutat Res.* 2008; 651:71–81.

Li QA, Li H, Du GF, Xu ZH. Electrochemical detection of bisphenol A mediated by [Ru(bpy)(3)](2+) on an ITO electrode. *J Hazard Mater.* 2010; 180: 703–709. pmid:20494514

Li CT., Cao, J., & Li, T. M. H. (2016). Eustress or distress: An empirical study of perceived stress in everyday college life. *UbiComp 2016 Adjunct - Proceedings of the 2016 ACM International Joint Conference on Pervasive and Ubiquitous Computing*, 1209–1217. <https://doi.org/10.1145/2968219.2968309>

Li R., Shumin Yang, Rufei Gao, Yin Deng, Jiahuan Liu, Chao Yuan, Qingmei Yao, Xinke Lv, Kanran Wang, Xiaoqi Ye, Bin Peng, Jinbo Hu, Aijun Chen, Relationship Between the Environmental Endocrine Disruptor Bisphenol a and Dyslipidemia: A Five-Year Prospective Study, *Endocrine Practice*, Volume 26, Issue 4, 2020, Pages 399-406, ISSN 1530-891X, <https://doi.org/10.4158/EP-2019-0384>.

Li L, Wang Q, Zhang Y, Niu Y, Yao X, Liu H (2015) The Molecular Mechanism of Bisphenol A (BPA) as an Endocrine Disruptor by Interacting with Nuclear Receptors: Insights from Molecular Dynamics (MD) Simulations. PLoS ONE 10(3): e0120330. <https://doi.org/10.1371/journal>.

Licciardi F.L. Liu H.C. Rosenwaks Z. Day 3 estradiol serum concentrations as prognosticators of ovarian stimulation response and pregnancy outcome in patients undergoing in vitro fertilization. FertilSteril. 1995; 64: 991-994

Lillo MA, Nichols C, Seagroves TN, Miranda-Carboni GA, Krum SA: Bisphenol a induces sox2 in er (+) breast cancer stem-like cells. Horm Cancer 8(2): 90-99, 2017. PMID: 28244015. DOI: 10.1007/s12672-017-0286-5

Lin HY, Tang HY, Davis FB, et al. Nongenomic regulation by thyroid hormone of plasma membrane ion and small molecule pumps. Discov Med. 2012; 14(76):199-206.

Loeken MR: Free radicals and birth defects. J Matern Fetal Neonatal Med 2004, 15:6-14.

London: Human Fertilization and Embryo Authority; 1996. Human Fertilization and Embryo Authority. The patients' guide to DI and IVF clinic.

Lornage J: Biological aspects of endometriosis in vitro fertilization. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris) 2003, 32: S48-50.

Ma, Ya, et al. "The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms." Environmental research 176 (2019): 108575.

Machtinger R, Combelles CM, Missmer SA, Correia KF, Williams P, Hauser R, Racowsky C: Bisphenol-A and human oocyte maturation in vitro. Human Reprod 2013, 28:2735–45.

Mahfouz R, Sharma R, Thiyagarajan A, Kale V, Gupta S, et al. (2010) Semen characteristics and sperm DNA fragmentation in infertile men with low and high levels of seminal reactive oxygen species. *Fertil Steril* 94: 2141-2146.

Manikkam, M., Tracey, R., Guerrero-Bosagna, C., & Skinner, M. K. (2013). Plastics derived endocrine disruptors (BPA, DEHP and DBP) induce epigenetic transgenerational inheritance of obesity, reproductive disease and sperm epimutations. *PloS one*, 8(1), e55387.

Marino M, Pellegrini M, La Rosa P, Acconcia F. Susceptibility of estrogen receptor rapid responses to xenoestrogens: Physiological outcomes. *Steroids*. 2012; 77(10):910-917.

Marsillach J, Checa MA, Pedro-Botet J, Carreras R, Joven J, Camps J. Paraoxonase-1 in female infertility: a possible role against oxidative stress-induced inflammation. *Fertil Steril*. 2010; 94:1132-4. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.11.043.

Martínez, Francisca, et al. "Prospective, randomized, comparative study of leuprorelin+ human menopausal gonadotropins versus ganirelix+ recombinant follicle-stimulating hormone in oocyte donors and pregnancy rates among the corresponding recipients." *Gynecological Endocrinology* 24.4 (2008): 188-193.

Maske, P., Dighe, V., Mote, C., & Vanage, G. (2020). n-Butylparaben exposure through gestation and lactation impairs spermatogenesis and steroidogenesis causing reduced fertility in the F1 generation male rats. *Environmental Pollution*, 256, 112957.

Matarese, Giuseppe, et al. "Pathogenesis of endometriosis: natural immunity dysfunction or autoimmune disease?" *Trends in molecular medicine* 9.5 (2003): 223-228.

Mbah, Chika & Orabueze, Ifeoma & Okorie, Ndiamaka. (2019). Antioxidants Properties of Natural and Synthetic Chemical Compounds: Therapeutic Effects on Biological System. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*. 3. 28-42. 10.31080/ASPS.2019.03.0273.

McLachlan, J. A. (2016). Environmental signaling: From environmental estrogens to endocrine-disrupting chemicals and beyond. *Andrology*, 4(4), 684–694.

Meeker, J.D. Exposure to environmental endocrine disrupting compounds and men's health. *Maturitas*. 2010, 66, 236–241.

Mendola P, Messer LC., RappazzoK., Science linking environmental contaminant exposures with fertility and reproductive health impacts in the adult female, *Fertility and Sterility*, Volume 89, Issue 2, Supplement, 2008, Pages e81-e94, ISSN 0015-0282, <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.12.036>.

Mendoza-Rodríguez CA, García-Guzmán M, Baranda-Avila N, Morimoto S, Perrot-Applanat M, Cerbón M: Administration of bisphenol A to dams during perinatal period modifies molecular and morphological reproductive parameters of the offspring. *Reprod Toxicol* 2011, 31:177–83.

Messerlian, C., Williams, P. L., Ford, J. B., Chavarro, J. E., Mínguez-Alarcón, L., Dadd, R. & EARTH Study Team. (2018). The Environment and Reproductive Health (EARTH) Study: a prospective preconception cohort. *Human reproduction open*, 2018(2), hoy001.

Mihalas, Bettina P., et al. "Molecular mechanisms responsible for increased vulnerability of the ageing oocyte to oxidative damage." *Oxidative medicine and cellular longevity* 2017 (2017).

Mínguez-Alarcon L, Gaskins AJ, Chiu YH, et al. Urinary bisphenol A concentrations and association with in vitro fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Hum Reprod*. 2015;30(9):2120-2128; doi: 10.1093/humrep/dev183

Missmer SA, Hankinson SE, Spiegelman D, Barbieri RL, Michels KB, Hunter DJ: In utero exposure and the incidence of endometriosis. *Fertil Steril* 2004, 82:1501–1508.

Moazamian, R., Polhemus, A., Connaughton, H., Fraser, B., Whiting, S., Gharagozloo, P. et al. (2015) Oxidative stress and human spermatozoa: diagnostic and functional significance of aldehydes generated as a result of lipid peroxidation. *Mol Hum Reprod* 21: 502–515.

Mok-Lin E, Ehrlich S, Williams PL, et al. Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *Int J Androl*. 2010; 33(2):385-393

Monje L, Varayoud J, Munoz-de-toro M, Luque EH, Ramos JG: Exposure of neonatal female rats to bisphenol A disrupt hypothalamic LHRH pre-mRNA processing and estrogen receptor alpha expression in nuclei controlling estrous cyclicity. *Reprod Toxicol* 2010, 30:625–34

Moreira Fernandez MA, Cardeal ZL, Carneiro MM, Andre LC. Study of possible association between endometriosis and phthalate and bisphenol A by biomarkers analysis. *J Pharm Biomed Anal*. 2019; 172:238–242. doi: 10.1016/j.jpba.2019.04.048.

Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, et al. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87: 5185–5190. pmid:12414890

Munné S, Chen S, Colls P, Garrisi J, Zheng X, Cekleniak N et al., Maternal age, morphology, development and chromosome abnormalities in over 6000 cleavage-stage embryos. *Reprod Biomed Online*. (2007) 14:628–34. 10.1016/S1472-6483(10)61057-7

Murri, Mora, et al. "Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis." *Human reproduction Update* 19.3 (2013): 268-288.

Mustieles, Vicente, et al. "Maternal and paternal preconception exposure to bisphenols and size at birth." *Human Reproduction* 33.8 (2018): 1528-1537.

Myatt L, Cui X: Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004, 122:369-382

Nagel, Susan C., et al. "Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol." *Environmental health perspectives* 105.1 (1997): 70-76.

Nallella K.P., Sharma R.K., Allamaneni S.S., Agarwal A. Identification of male factor infertility using a novel semen quality score and reactive oxygen species levels. *Clinics*. 2005; 60: 317-324

Nath B, Roy H. Antioxidants in Female Reproductive Biology. *Antioxidants - Benefits, Sources, Mechanisms of Action* [Internet]. 2021 Sep 8; Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.95937>

Nathan, C. (2003). Specificity of a third kind: reactive oxygen and nitrogen intermediates in cell signaling. *The Journal of clinical investigation*, 111(6), 769-778.

.

Nelles, J. L., Hu, W. Y., & Prins, G. S. (2011). Estrogen action and prostate cancer. *Expert review of endocrinology & metabolism*, 6(3), 437-451.

Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Banks E: Prenatal exposure to bisphenola at environmentally relevant doses adversely affects the murine female reproductive tract later in life. *Environ Health Perspect* 2009, 117:879–85.

NHANES: <https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/index.htm>. Draft data collection instruments and technical documentation: <https://www.dropbox.com/scl/fo/fmkrpng0tcaajvb25cg2/h?dl=0&rlkey=p5ias9rd5d0gnd3hym9sq0evo>. FRN: <https://www.federalregister.gov/d/2022-25245>.

Nieto-Estévez, V., Defterali, Ç., & Vicario-Abejón, C. (2016). IGF-I: a key growth factor that regulates neurogenesis and synaptogenesis from embryonic to adult stages of the brain. *Frontiers in neuroscience*, 10, 52.

Niki, E. (2016). Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 595, 19–24. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2015.11.017>

Noureddine M; Ristic M. Route planning for hazardous materials transportation: Multicriteria decision making approach. *Decision Making: Applications in Management and Engineering*. Vol. 2 No. 1 (2019): DOI: <https://doi.org/10.31181/dmame1901066n>

Nourian A, Soleimanzadeh A, Shalizar Jalali A, Najafi G. Effects of bisphenol-S low concentrations on oxidative stress status and in vitro fertilization potential in mature female mice. *Vet Res Forum*. 2017; 8(4):341–5.

Olea N, Pulgar R, Pérez P, Olea-Serrano F, Rivas A, Novillo-Fertrell A, Pedraza V, Soto AM, Sonnenschein C (1996) Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect* 104:298–305

Oyawoye O, Abdel Gadir A, Garner A, Constantinovici N, Perrett C, Hardiman P: Antioxidants and reactive oxygen species in follicular fluid of women undergoing IVF: relationship to outcome. *Hum Reprod* 2003, 18:2270-2274.

Pallotti, Francesco, Marianna Pelloni, Daniele Gianfrilli, Andrea Lenzi, Francesco Lombardo, and Donatella Paoli. 2020. "Mechanisms of Testicular Disruption from Exposure to Bisphenol A and Phtalates" *Journal of Clinical Medicine* 9, no. 2: 471. <https://doi.org/10.3390/jcm9020471>

Padureanu R., Albu C. V., Mititelu R. R., Bacanoiu M. V., Docea A. O., Calina D., et al. (2019). Oxidative stress and inflammation interdependence in multiple sclerosis. *J. Clin. Med.* 8:1815.

Pangas SA, Rajkovic A. Chapter 21 - Follicular Development: Mouse, Sheep, and Human Models. In: *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction (Fourth Edition)*. San Diego: Academic Press; 2015:947–995.

Paris F, Balaguer P, Térouanne B, Servant N, Lacoste C, Cravedi JP, Nicolas JC, Sultan C (2002) Phenylphenols, biphenols, bisphenolA and 4-tert-octylphenol exhibit α and β estrogen activities and

antiandrogen activity in reporter cell lines. *Mol Cell Endocrinol* 193:43–49.
[https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(02\)00094-1](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(02)00094-1)

Pasqualotto EB, Agarwal A, Sharma RK, Izzo VM, Pinotti JA, Joshi NJ, Rose BI: Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertil Steril*. 2004, 81: 973-976.

Paszkowski T, Clarke RN, Hornstein MD: Smoking induces oxidative stress inside the Graafian follicle. *Hum Reprod* 2002, 17:921-925.

Patanayak MC., Correlation between embryo quality, age & IVF/ICSI outcome. 90; Supplement, S 430-S 431,01, 2008. DOI <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2008.07.1268>

Patisaul HB, Fortino AE; Polston EK., Neonatal genistein or bisphenol-A exposure alters sexual differentiation of the AVPV, *Neurotoxicology and Teratology*, Volume 28, Issue 1, 2006, Pages 111-118, ISSN 0892-0362.

Patisaul HB; Mabrey N, Adewale HB; Sullivan A. Soy but not Bisphenol A (BPA) Induces Hallmarks of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Related Metabolic co-Morbidities in Rats. 2014, *Reproductive Toxicology* 49. DOI:10.1016/j.reprotox.2014.09.003

Patisaul HB. Endocrine disruption of vasopressin systems and related behaviors. *Front. Endocrinol*. 2017; 8:134

Patrizio P., Sakkas D., From oocyte to baby: a clinical evaluation of the biological efficiency of in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*. 91, 4, 2009, 1061-1066.

Pedram A, Razandi M, Sainson RC, Kim JK, Hughes CC, Levin ER. A conserved mechanism for steroid receptor translocation to the plasma membrane. *J Biol Chem*. 2007; 282(31): 22278-22288.

Pelch K., et al. A scoping review of the health and toxicological activity of bisphenol A (BPA) structural analogues and functional alternatives. *Toxicology*. 424, 1 August 2019

Peretz J, Gupta RK, Singh J, Hernández-Ochoa I, Flaws JA. Bisphenol A impairs follicle growth, inhibits steroidogenesis, and downregulates rate-limiting enzymes in the estradiol biosynthesis pathway. *Toxicol Sci*. 2010;119: 209–17

Peretz J. et al. "Bisphenol A impairs follicle growth, inhibits steroidogenesis, and downregulates rate-limiting enzymes in the estradiol biosynthesis pathway." *Toxicological Sciences* 119.1 (2011): 209-217.

Peretz J, Craig ZR, Flaws JA. Bisphenol A inhibits follicle growth and induces atresia in cultured mouse antral follicles independently of the genomic estrogenic pathway. *Biol Reprod*. 2012; 87:63.

Peretz J, Flaws JA. Bisphenol A down-regulates rate-limiting Cyp11a1 to acutely inhibit steroidogenesis in cultured mouse antral follicles. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2013; 271(2):249-256.

Peretz J. et al. "Bisphenol A and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007–2013." *Environmental health perspectives* 122.8 (2014): 775-786.

Petraglia, Felice, Gamal I. Serour, and Charles Chapron. "The changing prevalence of infertility." *International Journal of Gynecology & Obstetrics* 123 (2013): S4-S8.

Pierce JD, Cackler AB, Arnett MG: Why should you care about free radicals? *RN* 2004, 67:38-42.

Pike AC, Brzozowski AM, Hubbard RE, et al. Structure of the ligand-binding domain of oestrogen receptor beta in the presence of a partial agonist and a full antagonist. *EMBO J*. 1999;18(17): 4608-4618.

Pisarska MD, Chan JL, Lawrenson K, Gonzalez TL, Wang ET. Genetics and Epigenetics of Infertility and Treatments on Outcomes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(6):1871-1886. doi:10.1210/jc.2018-01869

Pivonello C, Muscogiuri G, Nardone A, et al. Bisphenol A: an emerging threat to female fertility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020;18(1):22. Published 2020 Mar 14. doi:10.1186/s12958-019-0558-8.

Potts, R. J., et al. "Sperm chromatin damage associated with male smoking." *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 423.1-2 (1999): 103-111.

Pressman EK, Cavanaugh JL, Mingione M, Norkus EP, Woods JR: Effects of maternal antioxidant supplementation on maternal and fetal antioxidant levels: a randomized, double-blind study. *Am J Obstet Gynecol* 2003, 189:1720-1725.

Prins GS, Hu W-Y, Xie L, Shi GB, Hu DP, Birch L, Bosland MC (2018) Evaluation of bisphenol A (BPA) exposures on prostate stem cell homeostasis and prostate cancer risk in the NCTR-Sprague-Dawley rat: an NIEHS/FDA CLARITY-BPA consortium study. *Environ Health Perspect* 126:117001. <https://doi.org/10.1289/EHP3953>

Ptak A, Gregoraszczyk EL. Bisphenol A induces leptin receptor expression, creating more binding sites for leptin, and activates the JAK/Stat, MAPK/ERK and PI3K/Akt signalling pathways in human ovarian cancer cell. *Toxicology Letters*. 2012 May;210(3):332-337. DOI: 10.1016/j.toxlet.2012.02.003. PMID: 22343039.

Ptak A, Rak-Mardyła A, Gregoraszczyk EL. 2013. Cooperation of bisphenol A and leptin in inhibition of caspase-3 expression and activity in OVCAR-3 ovarian cancer cells. *Toxicol In Vitro* 27:1937-1943.

Pupo M., Assunta Pisano, Rosamaria Lappano, Maria Francesca Santolla et al., 2012, Bisphenol A Induces Gene Expression Changes and Proliferative Effects through GPER in Breast Cancer Cells and Cancer-Associated Fibroblasts, *Environmental Health Perspectives* 120:8 CID: <https://doi.org/10.1289/ehp.1104526>

Qiao, Jie, and Huai L. Feng. "Extra-and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: impact on oocyte maturation and embryo developmental competence." *Human reproduction update* 17.1 (2011): 17-33.

Qu W, Zhao Z, Chen S, Zhang L, Wu D, Chen Z. Bisphenol A suppresses proliferation and induces apoptosis in colonic epithelial cells through mitochondrial and MAPK/AKT pathways. *Life Sci.* 2018; 208:167–174. doi: 10.1016/j.lfs.2018.07.040.

Quan, C., Wang, C., Duan, P., Huang, W., & Yang, K. (2017). Prenatal bisphenol a exposure leads to reproductive hazards on male offspring via the Akt/mTOR and mitochondrial apoptosis pathways. *Environmental Toxicology*, 32(3), 1007–1023.

Queiroz EK; Waissmann W. Occupational exposure and effects on the male reproductive system *Cad Saúde Pública*, 22 (2006), pp. 485-493

Ramlau-Hansen, C. H., et al. "Is smoking a risk factor for decreased semen quality? A cross-sectional analysis." *Human Reproduction* 22.1 (2007): 188-196.

Rancière, Fanny, et al. "Exposure to bisphenol A and bisphenol S and incident type 2 diabetes: a case–cohort study in the French cohort DESIR." *Environmental health perspectives* 127.10 (2019): 107013.

Ray PD, Huang BW, Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012; 24(5):981-990. doi:10.1016/j.cellsig.2012.01.008.

Rehman, S., Usman, Z., Rehman, S., Aldraihem, M., Rehman, N., Rehman, I., & Ahmad, G. (2018). Endocrine disrupting chemicals and impact on male reproductive health. *Translational Andrology and Urology*, 7(3), 490–503.

Rehman, H., Jahan, S., Ullah, I., & Winberg, S. (2019). Toxicological effects of furan on the reproductive system of male rats: An "in vitro" and "in vivo"-based endocrinological and spermatogonial study. *Chemosphere*, 230, 327–336.

Ren, J., Cui, J., Chen, Q., Zhou, N., Zhou, Z., Zhang, G.-H., Cao, J. (2019). Low-level lead exposure is associated with aberrant sperm quality and reproductive hormone levels in Chinese male individuals: Results from the MARHCS study low-level lead exposure is associated with aberrant sperm quality. *Chemosphere*, 244, 125402.

Reuter S., Gupta S. C., Chaturvedi M. M., Aggarwal B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49 1603–1616. [10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006)

Rice-Evans, C., Halliwell, B., Lunt, G. G., & Davies, K. J. (1995, November). Oxidative stress: the paradox of aerobic life. In *Biochemical Society Symposia* (Vol. 61, pp. 1-31). Portland Press.

Richards JS, Liu Z, Shimada M. Chapter 22 - Ovulation. In: Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction* (Fourth Edition). San Diego; Academic Press; 2015:997–1021.

Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, Vandenberg JG, Walser-Kuntz DR, Vom Saal FS: In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol* 2007, 24:199–224.

Richter, von Zglinicki, A continuous correlation between oxidative stress and telomere shortening in fibroblasts, *Experimental Gerontology*, Volume 42, Issue 11, 2007, Pages 1039-1042, ISSN 0531-5565, <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.08.005>.

Rim, K. T. (2017). Reproductive toxic chemicals at work and efforts to protect workers' health: A literature review. *Safety and Health at Work*, 8(2), 143–150.

Rittenberg V, Seshadri S, Sunkara SK, Sobaleva S, Oteng-Ntim E, El-Toukhy T. Effect of body mass index on IVF treatment outcome: an updated systematic review and meta-analysis. *Reprod BioMed Online*. 2011;23(4): 421–39

Riu A, Grimaldi M, le Maire A, Bey G, Phillips K, Boulahtouf A, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma is a target for halogenated analogs of bisphenol A. *Environ Health Perspect*. 2011; 119: 1227–1232. pmid:21561829

Rivera OE, Varayoud J, Rodríguez HA, Muñoz-de-Toro M, Luque EH: Neonatal exposure to bisphenol A or diethylstilbestrol alters the ovarianfollicular dynamics in the lamb. *Reprod Toxicol* 2011, 32:304–12.

Rizzo, A.; Roscino, M.T.; Binetti, F.; Sciorsci, R.L. Roles of reactive oxygen species in female reproduction. *Reprod. Domest. Anim.* 2012, 47, 344–352.

Rocheffort H, Jouannet P: Rapport complet de l'académie de médecine sur perturbateurs endocriniens, www.Academie-medecine.Fr. Endocrine disruptors and hormone-dependent cancers. *Bull Acad Natl Med* 195(8): 1965-1979, 2011.

Rocheffort H. Endocrine disruptors (EDs) and hormone-dependent cancers: Correlation or causal relationship? *C. R. Biol.* 2017; 340:439–445.

Rochester J. R. Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive Toxicology*. 2013; 42:132–155. doi: 10.1016/j.reprotox.2013.08.008.

Rodríguez HA, Santambrosio N, Santamaría CG, Muñoz-de-Toro M, Luque EH: Neonatal exposure to bisphenol A reduces the pool of primordial follicles in the rat ovary. *Reprod Toxicol* 2010, 30(4)

Rogers, L. D. (2021). What Does CLARITY-BPA Mean for Canadians? *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(13), 7001.

Romani F, Tropea A, Scarinci E, Dello Russo C, Lisi L, Catino S, Lanzone A, Apa R: Endocrine disruptors and human corpus luteum: in vitro effects of phenols on luteal cells function. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev* 2013, 31:170–80.

Rosselli M, Dubey RK, Imthurn B, Macas E, Keller PJ: Effects of nitric oxide on human spermatozoa: evidence that nitric oxide decreases sperm motility and induces sperm toxicity. *Hum Reprod* 1995, 10:1786-1790

Rubin B, Soto AM. Bisphenol A: perinatal exposure and body weight. *Mol Cell Endocrinol.* 2009; 304(1-2):55-62.

Rubin BS, Lenkowski JR, Schaeberle CM, Vandenberg LN, Ronsheim PM, Soto AM: Evidence of altered brain sexual differentiation in mice exposed perinatally to low environmentally relevant levels of bisphenol A. *Endocrinology* 2006, 147:3681–3691.

Ryan BC, Hotchkiss AK, Crofton KM, Gray LE., Jr. In utero and lactational exposure to bisphenol A, in contrast to ethinyl estradiol, does not alter sexually dimorphic behavior, puberty, fertility, and anatomy of female LE rats. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology.* 2010; 114:133–148.

Sabatini L, Wilson C, Lower A, Al-Shawaf T, Grudzinskas JG. Superoxide dismutase activity in human follicular fluid after controlled ovarian hyperstimulation in women undergoing in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1999; 72:1027–1034. doi: 10.1016/S0015-0282(99)00411-2.

Sabry R, Apps C, Reiter-Saunders JA, Saleh AC, Balachandran S, St John EJ, et al. BPA and BPS affect Connexin 37 in bovine cumulus cells. *Genes (Basel).* 2021a;12(2):321. <https://doi.org/10.3390/genes12020321>.

Sabry R, Saleh AC, Stalker L, LaMarre J, Favetta LA. Effects of bisphenol a and bisphenol S on microRNA expression during bovine (*Bos taurus*) oocyte maturation and early embryo development. *Reprod Toxicol.* 2021b; 99: 96–108. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.12.001.

Saiyood S, Vangnai AS, Thiravetyan P, Inthorn D. Bisphenol A removal by the *Dracaena* plant and the role of plant-associating bacteria. *J Hazard Mater.* 2010; 178: 777–785. pmid:20304555

Sakaue, Motoharu, et al. "Bisphenol-A affects spermatogenesis in the adult rat even at a low dose." *Journal of occupational health* 43.4 (2001): 185-190.

Saleh AC, Sabry R, Mastromonaco GF, Favetta LA. 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.* 2021; 19 (1):119. Published 2021 Aug 3. doi:10.1186/s12958-021-00773-6

Salnikow K, Donald SP, Bruick RK, Zhitkovich A, Phang JM, Kasprzak KS. Depletion of intracellular ascorbate by the carcinogenic metal nickel and cobalt results in the induction of hypoxic stress. *The Journal of Biological Chemistry.* 2004; 279:40337-40344

Santangeli S., Francesca Maradonna, Ike Olivotto, Chiara Carla Piccinetti, Giorgia Gioacchini, Oliana Carnevali, Effects of BPA on female reproductive function: The involvement of epigenetic mechanism, *General and Comparative Endocrinology*, Volume 245, 2017, Pages 122-126,

Saradha B, Mathur PP. Effect of environmental contaminants on male reproduction. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2006; 21:34–41. doi: 10.1016/j.etap.2005.06.004

Saradha, B., Vaithinathan, S., & Mathur, P. P. (2008). Single exposure to low dose of lindane causes transient decrease in testicular steroidogenesis in adult male Wistar rats. *Toxicology*, 244(2–3), 190–197.

Souter I, Smith KW, Dimitriadis I, Ehrlich S, Williams PL, Calafat AM, Hauser R. The association of bisphenol-A urinary concentrations with antral follicle counts and other measures of ovarian reserve in women undergoing infertility treatments. *Reprod Toxicol.* 2013 Dec; 42:224-31. doi: 10.1016/j.reprotox.2013.09.008. Epub 2013 Oct 4. PMID: 24100206; PMCID: PMC4383527.

Seachrist DD, Bonk KW, Ho SM, Prins GS, Soto AM, Keri RA. A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. *Reprod Toxicol.* 2016; 59:167-182. doi:10.1016/j.reprotox. 2015.09.006

Seino T, Saito H, Kaneko T et al. 2002 Eight-hydroxy-2'- deoxyguanosine in granulosa cells is correlated with the quality of oocytes and embryos in an in vitro fertilization-embryo transfer program. *Fertility and Sterility* 77, 1184–1190.

Senyildiz M, Karaman EF, Bas SS, Pirincci PA, Ozden S (2017) Effects of BPA on global DNA methylation and global histone 3 lysine modifications in SH-SY5Y cells: an epigenetic mechanism linking the regulation of chromatin modifying genes. *Toxicol Vitro* 44:313– 321. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.07.028>

Şenyildiz M, Özden S (2015) Alteration in global DNA methylation after bisphenol a exposure in MCF-7cells. *J. Pharm Istanbul Univ* 45:153–164. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.06.219>

Sepaniak, Sandrine, et al. "The influence of cigarette smoking on human sperm quality and DNA fragmentation." *Toxicology* 223.1-2 (2006): 54-60.

Shehadeh A., Bruck-Haimson R., Saidenberg D., Zacharia A., Herzberg S., Ben-Meir A., Moussaieff A. A shift in follicular fluid from triacylglycerols to membrane lipids is associated with positive pregnancy outcome. *FASEB J.* 2019;33: 10291–10299. doi: 10.1096/fj.201900318R

Sheng ZG, Tang Y, Liu YX, et al. Low concentrations of bisphenol a suppress thyroid hormone receptor transcription through a nongenomic mechanism. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012; 259(1): 133-142.

Sheweita, S. A., Al-Shora, S., & Hassan, M. (2016). Effects of benzo[a] pyrene as an environmental pollutant and two natural antioxidants on biomarkers of reproductive dysfunction in male rats. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(17), 17226–17235.

Shi, M., Sekulovski, N., MacLean, J. A. 2nd, & Hayashi, K. (2018). Prenatal exposure to bisphenol A analogues on male reproductive functions in mice. *Toxicological Sciences*, 163(2), 620–631.

Shkolnik, K.; Tadmor, A.; Ben-Dor, S.; Nevo, N.; Galiani, D.; Dekel, N. Reactive oxygen species are indispensable in ovulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2011, 108, 1462–1467.

Shu, Xiaoyu, et al. "Bisphenol A is not associated with a 5-year incidence of type 2 diabetes: a prospective nested case–control study." *Acta Diabetologica* 55 (2018): 369-375.

Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011 Nov;127(3-5):204-15. doi: 10.1016/j.jsbmb.2011.08.007. Epub 2011 Aug 27. PMID: 21899826; PMCID: PMC3220783.

Sies, H. (1991). Oxidative stress: From basic research to clinical application. *American Journal of Medicine*, 91(3 C), S31–S38.

Signorile PG, Spugnini EP, Mita L, Mellone P, D'Avino A, Bianco M, Diano N, Caputo L, Rea F, Viceconte R, Portaccio M, Viggiano E, Citro G, Pierantoni R, Sica V, Vincenzi B, Mita DG, Baldi F, Baldi A: Pre-natal exposure of mice to bisphenol A elicits an endometriosis-like phenotype in female offspring. *Gen Comp Endocrinol* 2010, 168:318–25.

Silva PF, Gadella BM, Colenbrander B, Roelen BA. Exposure of bovine sperm to pro-oxidants impairs the developmental competence of the embryo after the first cleavage. *Theriogenology*. 2007 Feb;67(3):609-19. doi: 10.1016/j.theriogenology.2006.09.032. Epub 2006 Oct 23. PMID: 17056104.

Simonelli A, Guadagni R, De Franciscis P, Colacurci N, Pieri M, Basilicata P, et al. Environmental and occupational exposure to bisphenol A and endometriosis: urinary and peritoneal fluid concentration levels. *Int Arch Occup Environ Health*. 2017;90(1):49–61.

Singh AK, Chattopadhyay R, Chakravarty B, Chaudhury K. Markers of oxidative stress in follicular fluid of women with endometriosis and tubal infertility undergoing IVF. *Reprod Toxicol.* 2013; 42: 116-124.

Singh S and Shoei-Lung Li S. Epigenetic Effects of Environmental Chemicals Bisphenol A and Phthalates. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 13(8), 10143-10153.

Singh, S., & Singh, S. K. (2019). Prepubertal exposure to perfluorononanoic acid interferes with spermatogenesis and steroidogenesis in male mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 170, 590–599.

Siristatidis, C.; Askoxylaki, M.; Varounis, C.; Kassanos, D.; Chrelias, C. E-selectin, resistin and reactive oxygen species levels in GnRH -agonist and -antagonist protocols in IVF/ICSI: A prospective cohort study. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2015, 32, 959–967.

Smotrich D.B. Widra E.A. Gindoff P.R. Levy M.J. Hall J.L. Stillman R.J. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril.* 1995; 64: 1136 -1140.

Sofikitis, Nikolaos, et al. "Effects of cotinine on sperm motility, membrane function, and fertilizing capacity in vitro." *Urological research* 28 (2000): 370-375.

Sohoni P, Sumpter JP. Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *J Endocrinol.* 1998; 158: 327–339. pmid:9846162. View ArticlePubMed/NCBIGoogle Scholar

Sol, Chalana M., et al. "Associations of maternal phthalate and bisphenol urine concentrations during pregnancy with childhood blood pressure in a population-based prospective cohort study." *Environment international* 138 (2020): 105677.

Souter I, Smith KW, Dimitriadis I, Ehrlich S, Williams PL, Calafat AM, Hauser R. The association of bisphenol-A urinary concentrations with antral follicle counts and other measures of ovarian reserve in women undergoing infertility treatments. *Reprod Toxicol.* 2013 Dec; 42:224-31. doi: 10.1016/j.reprotox.2013.09.008. Epub 2013 Oct 4.

Speroff L. The effect of aging on fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 1994; 6:115–20.

Sprague BL, Trentham-Dietz A, Hedman CJ, Wang J, Hemming JD, Hampton JM, Buist DS, Aiello Bowles EJ, Sisney GS and Burnside ES: Circulating serum xenoestrogens and mammographic breast density. *Breast Cancer Res* 15(3): R45, 2013.

Stahlhut R.W., Wade V. Welshons, and Shanna H. Swan, 2009, Bisphenol A Data in NHANES Suggest Longer than Expected Half-Life, Substantial Nonfood Exposure, or Both, *Environmental Health Perspectives* 117:5 CID: <https://doi.org/10.1289/ehp.0800376>

Strakovsky, Rita S., et al. "Developmental bisphenol A (BPA) exposure leads to sex-specific modification of hepatic gene expression and epigenome at birth that may exacerbate high-fat diet-induced hepatic steatosis." *Toxicology and applied pharmacology* 284.2 (2015): 101-112.

Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura A, Kato H. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Mol Hum Reprod.* 2000; 6: 19-25.

Sugiura-Ogasawara, M.; Ozaki, Y.; Sonta, S.; Makino, T.; Suzumori, K. Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Hum. Reprod.* 2005, 20, 2325–2329.

Sui Y, Ai N, Park SH, Rios-Pilier J, Perkins JT, Welsh WJ, et al. Bisphenol A and its analogues activate human pregnane X receptor. *Environ Health Perspect.* 2012; 120: 399–405. doi: 10.1289/ehp. 1104426 PMID: 22214767

Sun Q, Cornelis MC, Townsend MK, et al. Association of urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites with risk of type 2 diabetes: a prospective investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII cohorts. *Environ Health Perspect.* 2014;122(6):616-623. doi:10.1289/ehp.1307201

Supramaniam et al. The correlation between raised body mass index and assisted reproductive treatment outcomes: a systematic review and metaanalysis of the evidence. *Reproductive Health* (2018) 15:34 <https://doi.org/10.1186/s12978-018-0481-z>

Susiarjo M, Hassold TJ, Freeman E, Hunt PA. Bisphenol a exposure in utero disrupts early oogenesis in the mouse. *PLoS Genet.*2007;3(1):e5.

<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030005>.

Suzuki T, Sugino N, Fukaya T, Sugiyama S, Uda T, Takaya R, Yajima A, Sasano H. Superoxide dismutase in normal cycling human ovaries: immunohistochemical localization and characterization. *Fertil Steril.* 1999;72: 720–726. doi: 10.1016/S0015-0282(99)00332-5.

Szczepanska M, Kozlik J, Skrzypczak J, Mikolajczyk M: Oxidative stress may be a piece in the endometriosis puzzle. *Fertil Steril* 2003, 79:1288-1293.

Tabb MM, Blumberg B. New modes of action for endocrine-disrupting chemicals. *Mol Endocrinol.* 2006; 20: 475–482. PMID: 16037129

Takagi Y, Nikaido T, Toki T, Kita N, Kanai M, Ashida T, Ohira S, Konishi I: Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction. *Virchows Arch* 2004, 444:49-55.

Takahashi, T.; Igarashi, H.; Amita, M.; Hara, S.; Matsuo, K.; Kurachi, H. Molecular mechanism of poor embryo development in postovulatory aged oocytes: Mini review. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2013, 39, 1431–1439.

Takayanagi S, Tokunaga T, Liu X, Okada H, Matsushima A, Shimohigashi Y. Endocrine disruptor bisphenol A strongly binds to human estrogen-related receptor gamma (ERRgamma) with high constitutive activity. *Toxicol Lett.* 2006; 167: 95–105. pmid:17049190.

Takao et al. 2002 Release of Bisphenol A from Food Can Lining upon Heating. August 2002. *Journal of Health Science* 48(4). DOI:10.1248/jhs.48.331

Takeuchi, T.; Tsutsumi, O.; Ikezuki, Y.; Takai, Y.; Taketani, Y. Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. *Endocr. J.* 2004, 51, 165–169.

Tan, Tse Yeun, et al. "Female ageing and reproductive outcome in assisted reproduction cycles." *Singapore medical journal* 55.6 (2014): 305.

Tarantino G, Valentino R, Di Somma C, D'Esposito V, Passaretti F, Pizza G, Brancato V, Orio F, Formisano P, Colao A, Savastano S: Bisphenol A in polycystic ovary syndrome and its association with liver-spleen axis. *Clin Endocrinol* 2013, 78:447–53.

Taylor J. A., vom Saal, F. S., Welshons, W. V., Drury, B., Rottinghaus, G. (2011). Similarity of bisphenol A pharmacokinetics in rhesus monkeys and mice: relevance for human exposure, in: *Environmental Health Perspectives*, 119, S. 422–430

Taylor J. A. et al.; "Interactive effects of perinatal BPA or DES and adult testosterone and estradiol exposure on adult urethral obstruction and bladder, kidney, and prostate pathology in male mice." *International journal of molecular sciences* 21.11 (2020): 3902.

Teitelbaum SL, Belpoggi F and Reinlib L: Advancing research on endocrine disrupting chemicals in breast cancer: Expert panel recommendations. *Reprod Toxicol* 54: 141-147, 2015. PMID: 25549947. DOI: 10.1016/j.reprotox.2014.12.015.

Thayer KA, Doerge DR, Hunt D, et al. Pharmacokinetics of bisphenol A in humans following a single oral administration. *Environ Int.* 2015, 83:107-115. doi:10.1016/j.envint.2015.06.008

Thomson L.K., Fleming S.D., Aitken R.J., De Iuliis G.N., Zieschang J.A., Clark A.M. Cryopreservation-induced human sperm DNA damage is predominantly mediated by oxidative stress rather than apoptosis. *Hum Reprod*, 24 (2009), pp. 2061-2070

Thouas, G. A., Dominguez, F., Green, M. P., Vilella, F., Simon, C., & Gardner, D. K. (2015). Soluble ligands and their receptors in human embryo development and implantation. *Endocrine reviews*, 36(1), 92-130.

Titus L., Elizabeth E. Hatch, Keith M. Drake, Samantha E. Parker, Marianne Hyer, Julie R. Palmer, William C. Strohsnitter, Ervin Adam, Arthur L. Herbst, Dezheng Huo, Robert N. Hoover, Rebecca Troisi; Reproductive and hormone-related outcomes in women whose mothers were exposed in utero to diethylstilbestrol (DES): A report from the US National Cancer Institute DES Third Generation Study; *Reproductive Toxicology*, Volume 84, 2019, Pages 32-38, ISSN 0890-6238, <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.12.008>.

Tranquilli AL, Bezzeccheri V, Giannubilo SR, Scagnoli C, Mazzanti L, Garzetti GG: Amniotic vascular endothelial growth factor (VEGF) and nitric oxide (NO) in women with subsequent preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004, 113:17-20.

Tremellen K. Oxidative stress and male infertility – a clinical perspective *Hum Reprod Update*, 14 (2008), pp. 243-258

Tsafiriri A, Reich R: Molecular aspects of mammalian ovulation. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1999, 107: 1-11.

Tsai WT, Lee MK, Su TY, Chang YM. Photodegradation of bisphenol-A in a batch TiO₂ suspension reactor. *J Hazard Mater*. 2009; 168: 269–275. pmid:19285792

Upson, Kristen, et al. "A population-based case-control study of urinary bisphenol A concentrations and risk of endometriosis." *Human Reproduction* 29.11 (2014): 2457-2464.

Vaithinathan, S., Saradha, B., & Mathur, P. P. (2008). Transient inhibitory effect of methoxychlor on testicular steroidogenesis in rat: An in vivo study. *Archives of Toxicology*, 82(11), 833–839.

Valvi, Damaskini, et al. "Prenatal bisphenol a urine concentrations and early rapid growth and overweight risk in the offspring." *Epidemiology* (2013): 791-799.

Van Blerkom J, Antczak M, Schrader R: The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod.* 1997, 12: 1047-1055.
10.1093/humrep/12.5.1047.

Van Blerkom, Jonathan. "Mitochondrial function in the human oocyte and embryo and their role in developmental competence." *Mitochondrion* 11.5 (2011): 797-813.

Van Der Steeg, Jan Willem, et al. "Obesity affects spontaneous pregnancy chances in subfertile, ovulatory women." *Human reproduction* 23.2 (2008): 324-328.

Van Langendonck A., Casanas-Roux F., Donnez J. Oxidative stress and peritoneal endometriosis. *Fertil Steril.* 2002; 77: 861-870

Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol.* 2007a; 24:139–177.

Vandenberg LN, Maffini MV, Wadia PR, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Exposure to environmentally relevant doses of the xenoestrogen bisphenol-A alters development of the fetal mouse mammary gland. *J Endocrinol.* 2007b; 148: 116–127.

Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S., & Soto, A. M. (2009). Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine reviews*, 30(1), 75–95. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0021>

Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR Jr, Lee DH, Shioda T, Soto AM, vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT, Myers JP. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev* 2012; 33(3):378–455.

Varayoud J, Ramos JG, Bosquiazzo VL, Lower M, Muñoz-de-Toro M, Luque EH: Neonatal exposure to bisphenol A alters rat uterine implantation-associated gene expression and reduces the number of implantation sites. *Endocrinology* 2011, 152:1101–11.

Vega M, Johnson MC, Diaz HA, Urrutia LR, Troncoso JL, Devoto L: Regulation of human luteal steroidogenesis in vitro by nitric oxide. *Endocrine* 1998, 8:185-191.

Veiga-Lopez, Almudena, et al. "Gender-specific effects on gestational length and birth weight by early pregnancy BPA exposure." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100.11 (2015): E1394-E1403.

Vélez MP., Arbuckle TE; Fraser WD., Female exposure to phenols and phthalates and time to pregnancy: the Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals (MIREC) Study. *Fertility and Sterility*. Volume 103, Issue 4, April 2015, Pages 1011-1020.e2

Viguié C; Mhaouty-Kodja S, Habert R; Chevrier C., Michel C., E. Pasquier E., Evidence-based adverse outcome pathway approach for the identification of BPA as an endocrine disruptor in relation to its effect on the estrous cycle. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 475 (2018), pp. 10-28, 10.1016/j.mce.2018.02.007.

Villar-Pazos, S., Martinez-Pinna, J., Castellano-Muñoz, M. et al. Molecular mechanisms involved in the non-monotonic effect of bisphenol-a on Ca²⁺ entry in mouse pancreatic β-cells. *Sci Rep* 7, 11770 (2017). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-11995-3>

Völkel W, Kiranoglu M, Fromme H (2011) Determination of free and total bisphenol A in urine of infants. *Environ Res* 111(1):143–148

Vogel SA: The politics of plastics: The making and unmaking of bisphenol a "safety". *Am J Public Health* 99: S559-566, 2009. PMID: 19890158. DOI: 10.2105/AJPH.2008.159228

Vom Saal FS and Hughes C: An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol a shows the need for a new risk assessment. *Environ Health Perspect* 113(8): 926-933, 2005. PMID: 16079060. DOI: 10.1289/ehp.7713

Vom Saal FS, Myers JP. Bisphenol A and Risk of Metabolic Disorders. *JAMA*. 2008;300(11):1353–1355. doi:10.1001/jama.300.11.1353

Vrooman, Lisa A., et al. "Estrogenic exposure alters the spermatogonial stem cells in the developing testis, permanently reducing crossover levels in the adult." *PLoS genetics* 11.1 (2015): e1004949.

Wall PD, Pressman EK, Woods JR Jr: Preterm premature rupture of the membranes and antioxidants: the free radical connection. *J Perinat Med* 2002, 30:447-457.

Wallace M., Cottell E., Gibney M.J., McAuliffe F.M., Wingfield M., Brennan L. An investigation into the relationship between the metabolic profile of follicular fluid, oocyte developmental potential, and implantation outcome. *Fertil. Steril.* 2012; 97:1078–1084. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.01.122.

Wang X., Sharma R.K., Sikka S.C., Thomas Jr., A.J., Falcone T., Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril.* 2003; 80: 531-535

Wang et al., Urinary Bisphenol A (BPA) Concentration Associates with Obesity and Insulin Resistance, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 97, Issue 2, 1 February 2012, Pages E223–E227, <https://doi.org/10.1210/jc.2011-1989>

Wang X, Dong Q, Chen Y, et al. Bisphenol A affects axonal growth, musculature and motor behavior in developing zebrafish. *Aquat Toxicol.* 2013;142-143:104–113.

Wang Y., Chen, F., Ye, L., Zirkin, B., & Chen, H. (2017). Steroidogenesis in Leydig cells: Effects of aging and environmental factors. *Reproduction*, 154(4), R111–R122.

Wang, Hui, et al. "Anti-androgenic mechanisms of Bisphenol A involve androgen receptor signaling pathway." *Toxicology* 387 (2017): 10-16.

Wang, Y. X., Wu, Y., Chen, H. G., Duan, P., Wang, L., Shen, H. Q. Pan, A. N. (2019). Seminal plasma metabolome in relation to semen quality and urinary phthalate metabolites among Chinese adult men. *Environment International*, 129, 354–363.

Wang, Y., Ni, C., Li, X., Lin, Z., Zhu, Q., Li, L., & Ge, R. S. (2019). Phthalate-induced fetal leydig cell dysfunction mediates male reproductive tract anomalies. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 1309.

Wang X., Diamond Hill, Donald E. Tillitt, Ramji K. Bhandari,

Bisphenol A and 17 α -ethinylestradiol-induced transgenerational differences in expression of osmoregulatory genes in the gill of medaka (*Oryzias latipes*), *Aquatic Toxicology*, Volume 211, 2019, Pages 227-234

Warshaviak, M., Kalma, Y., Carmon, A., Samara, N., Dviri, M., Azem, F., & Ben-Yosef, D. (2019). The effect of advanced maternal age on embryo morphokinetics. *Frontiers in endocrinology*, 10, 686.

Watson C.S., Ann L. Wozniak, Nataliya N. Bulayeva, 2005, Xenoestrogens at Picomolar to Nanomolar Concentrations Trigger Membrane Estrogen Receptor- α -Mediated Ca²⁺ Fluxes and Prolactin Release in

GH3/B6 Pituitary Tumor Cells, Environmental Health Perspectives 113:4 CID:
<https://doi.org/10.1289/ehp.7505>

Weaver J.R., Susiarjo M., Bartolomei M.S. Imprinting and epigenetic changes in the early embryo. *Mamm. Genome*. 2009; 20:532–543. doi: 10.1007/s00335-009-9225-2.

Webster, R. P., V. H. J. Roberts, and L. Myatt. "Protein nitration in placenta—functional significance." *Placenta* 29.12 (2008): 985-994.

Welshons WV, Thayer KA, Judy BM, Taylor JA, Curran EM, vom Saal FS. Large effects from small exposures. I. Mechanisms for endocrine-disrupting chemicals with estrogenic activity. *Environ Health Perspect*. 2003 Jun; 111(8):994-1006.

Welshons WV, Nagel SC; Vom Saal FS., Large Effects from Small Exposures. III. Endocrine Mechanisms Mediating Effects of Bisphenol A at Levels of Human Exposure, *Endocrinology*, Volume 147, Issue 6, 1 June 2006, Pages s56–s69, <https://doi.org/10.1210/en.2005-1159>

Wiener-Megnazi, Zofnat, et al. "Oxidative stress indices in follicular fluid as measured by the thermochemiluminescence assay correlate with outcome parameters in in vitro fertilization." *Fertility and Sterility* 82 (2004): 1171-1176.

Wierman ME. Sex steroid effects at target tissues: mechanisms of action. *Adv Physiol Educ* 2007; 31(1):26–33.

Winters BR; Thomas J. Walsh TH J. The Epidemiology of Male Infertility. *Urol Clin N Am* 41 (2014) 195–204 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ucl.2013.08.006> 0094-0143/14/\$

Wisniewski, P., Romano, R. M., Kizys, M. M. L., Oliveira, K. C., Kasamatsu, T., Giannocco, G., Romano, M. A. (2015). Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Toxicology*, 329, 1–9.

Wright, C., S. Milne, and H. Leeson. "Sperm DNA damage caused by oxidative stress: modifiable clinical, lifestyle and nutritional factors in male infertility." *Reproductive biomedicine online* 28.6 (2014): 684-703.

Wu, Wentao, et al. "Bisphenol A and the risk of obesity a systematic review with meta-analysis of the epidemiological evidence." *Dose-Response* 18.2 (2020): 1559325820916949.

Xiao S, Diao H, Smith MA, Song X, Ye X: Preimplantation exposure to bisphenolA (BPA) affects embryo transport, preimplantation embryo development, and uterine receptivity in mice. *Reprod Toxicol* 2011, 32:434–41.

Yang HW, Hwang KJ, Kwon HC, Kim HS, Choi KW, Oh KS: Detection of reactive oxygen species (ROS) and apoptosis in human fragmented embryos. *Hum Reprod* 1998, 13:998-1002.

Zalko D, Jacques C, Duplan H, Bruel S, Perdu E. Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere*. 2011; 82: 424–430. pmid: 21030062

Zhang HQ, Zhang XF, Zhang LJ, Chao HH, Pan B, Feng YM, Li L, Sun XF, Shen W: Fetal exposure to bisphenol A affects the primordial follicle formation by inhibiting the meiotic progression of oocytes. *Mol Biol Rep* 2012, 39:5651–7.

Zhang, Hua, et al. "Somatic cells initiate primordial follicle activation and govern the development of dormant oocytes in mice." *Current Biology* 24.21 (2014): 2501-2508.

Zhang T., Li L, Qin XS, Zhou Y, Zhang XF, Wang LQ, De Felici M, Chen H, Qin GQ, Shen W. Di-(2-ethylhexyl) phthalate and bisphenol A exposure impairs mouse primordial follicle assembly in vitro. *Environ Mol Mutagen*. 2014 May;55(4):343-53. doi: 10.1002/em.21847. Epub 2014 Jan 24. PMID: 24458533.

Zhang B., Chen L, Bao Q, Zheng X. Upregulation of fibronectin, vitronectin and claudin-7 in cervical cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2016; 9:14247–14253.

Zheng YM, Wang Y, Zhao J, Dai YH, Luo XM, Shen ZJ, Chen X, Yuan W, Shen YP: Association between serum bisphenol-A and recurrent spontaneous abortion: a 1:2 case-control study, China [abstract]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2012, 33(8):841–5.

Zhou W, Fang F, Zhu W, Chen ZJ, Du Y, Zhang J. Bisphenol A and Ovarian Reserve among Infertile Women with Polycystic Ovarian Syndrome. *Int J Environ Res Public Health*. 2016 Dec 27;14(1):18. doi: 10.3390/ijerph14010018. PMID: 28036005; PMCID: PMC5295269.

Zhou et al., 2021., Association between serum estradiol levels prior to progesterone administration in artificial frozen-thawed blastocyst transfer cycles and live birth rate: a retrospective study *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.*, 128 (13) (2021), pp. 2092-2100, 10.1111/1471-0528.16777

Zini A, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase- and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. *Int J Androl*. 1993; 16:183-88.

Zitzmann, Michael, et al. "Male smokers have a decreased success rate for in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection." *Fertility and sterility* 79 (2003): 1550-1554.

Ziv-Gal A, Craig ZR, Wang W, Flaws JA. Bisphenol A inhibits cultured mouse ovarian follicle growth partially via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway. *Reprod Toxicol*. 2013; 42:58-67.

Ziv-Gal, A., Wang, W., Zhou, C., & Flaws, J. A. (2015). The effects of in utero bisphenol A exposure on reproductive capacity in several generations of mice. *Toxicology and applied pharmacology*, 284(3), 354–362. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.03.003>

Ziv-Gal A, Flaws JA. Evidence for bisphenol A-induced female infertility: a review (2007-2016). *Fertil Steril*. 2016 Sep 15;106(4):827-56. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.06.027. Epub 2016 Jul 12. PMID: 27417731; PMCID: PMC5026908.

Zoeller RT, Bansal R, Parris C. Bisphenol-A, an environmental contaminant that acts as a thyroid hormone receptor antagonist in vitro, increases serum thyroxine, and alters RC3/neurogranin expression in the developing rat brain. *J Endocrinol*. 2005; 146: 607–612

Zsarnovszky A, Le HH, Wang H-S, Belcher SM. Ontogeny of rapid estrogen-mediated extracellular signal-regulated kinase signaling in the rat cerebellar cortex: potent nongenomic agonist and endocrine disrupting activity of the xenoestrogen bisphenol A. *Endocrinology*. 2005; 146:5388–5396.

7. Publikationen / Danksagung

An dieser Stelle möchte ich herzlich allen danken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben.

Herr Prof. Dr. Dr. M. E. Hammadeh danke ich sehr für die Vergabe des spannenden Themas. Ihm gebührt der Dank als Doktorvater und Ansprechpartner in allen Phasen der Dissertation.

Herr Prof. Dr. med. Erich Solomayer danke ich für die Nutzungsmöglichkeit der Laborräume und die Ausrüstung der Universitätsfrauenklinik.

Herr Prof. Dr. med. Sterzik, Herr Prof. Dr. med. Hütter und Dr. med. Strehler danke ich ganz besonders für die großzügige Unterstützung und zur Verfügungsstellung von wichtigen Reagenzien, welche zum Gelingen der Doktorarbeit unabdingbar waren.

Frau Seifried als Laborleitung und Prof. Hammad als wissenschaftlicher Mitarbeiter des IVF-Labors danke ich sehr für ihre Unterstützung und ihre tolle Betreuung im Labor.

Frau Schiestel-Stammwitz aus dem Promotionsbüro der Universitätsklinik Homburg für Ihre stete Hilfe bei meinen unermüdlichen Anfragen über viele Jahre hinweg.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. med. Edgar Hohlfeldt für die Beratung und Betreuung bei der statistischen Auswertung bedanken.

Herr PD Dr. med. Felix Flock als mein Chefarzt und unerbittlicher Unterstützer in jeder Phase meiner Promotion.

Nicht zuletzt darf ich meinen Dank meinen Eltern aussprechen, denen ich es überhaupt zu verdanken habe, studiert haben zu können und für die entsprechende „Kinderstube“, die mir als Basis dient und mir viele Türen geöffnet hat. Mein Vater Prof. Dr. med. Wolfgang Hütter als zusätzlich tatkräftige und hochkarätige Hilfe beim Korrektur lesen dieser Arbeit.

Meinen Söhnen Henry Valentin und Leopold Anton sowie meiner Frau, kann an dieser Stelle nicht genug Dank ausgesprochen werden. Meiner Frau Saskia, für die verständnisvolle „Freistellung“ familiärer Verpflichtungen trotz meines sehr ausfüllenden Berufslebens. Die liebevolle, anhaltende Motivation und die in jeder Hinsicht und in jeder Lebensphase erfahrene Unterstützung, hat es mir überhaupt erst ermöglicht, diese Arbeit zu erstellen.

8. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 28.11.2023

Dekan: Prof. Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. Mohamed Hammad

Prof. Dr. Letizia Prates Roma