

Os Efeitos do Bisfenol A na Infertilidade Masculina Humana

Mafalda Nunes Petrucci Felizol Presunto

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(Mestrado Integrado)

Orientadora: Prof. Doutora Maria Elisa Cairrão Rodrigues Oliveira

março de 2023

Declaração de Integridade

Eu, **Mafalda Nunes Petrucci Felizol Presunto**, que abaixo assino, estudante com o número de inscrição 38823 de Mestrado Integrado em Medicina, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **código de Integridades da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assumindo assim na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 20/03/2023

Assinatura

Handwritten signature of Mafalda Nunes in black ink.

Agradecimentos

Quero agradecer a todas as pessoas que, de alguma forma, permitiram que esta dissertação se concretizasse.

Em primeiro lugar á minha orientadora, Professora Doutora Elisa Cairrão, agradeço a orientação exemplar e uma visão crítica e oportuna, as quais contribuíram para enriquecer e tornar possível este trabalho.

Aos meus amigos, que percorrem o mesmo caminho lado a lado e se tornaram apoios fundamentais nesta etapa.

À minha família, em especial á minha irmã, que acompanhou este processo de forma diferente, mas foi peça fundamental para a sua concretização. Pelo seu apoio incondicional, amizade e paciência.

Ao meu Nox, por todos os beijos, abraços, festas e carinho e por todas as sextas que fizeram companhia, sem dúvida o melhor amigo do Homem.

Resumo

Os disruptores endócrinos (DE) podem ter um efeito nocivo no sistema endócrino do corpo humano. São definidos pela Agência de Proteção Ambiental dos EUA como "um agente que interfere com a síntese, secreção, transporte, ligação ou eliminação de hormonas naturais no organismo responsáveis pela manutenção da homeostasia, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento. Ao interferir com o sistema hormonal, produzem efeitos adversos no desenvolvimento, reprodução, sistema neurológico, cardiovascular, imunológico e metabolismo, tanto em seres humanos como na vida selvagem. De acordo com a OMS, os DE são maioritariamente fabricados pelo homem, encontrados ubiquamente no nosso dia-dia, nomeadamente em pesticidas, metais, aditivos ou contaminantes nos alimentos e produtos de higiene pessoal. A exposição humana ocorre através da ingestão de alimentos, poeiras e água, através da inalação de gases e partículas no ar e através da pele. O Bisfenol A (BPA) é um disruptor endócrino capaz de imitar ou bloquear os recetores e alterar as concentrações hormonais e o seu metabolismo. Apesar de ser detetado em doses baixas, a sua exposição pode estimular respostas celulares e afetar as funções do corpo. Nos seres humanos, o aumento da exposição ao BPA tem sido correlacionado com o aparecimento ou desenvolvimento de várias doenças, problemas de saúde e condições médicas. Com esta revisão da literatura pretendeu-se verificar quais os efeitos do BPA na infertilidade masculina humana, recorrendo à bibliografia publicada mais recentemente. Assim, esta revisão permitiu concluir que parecem existir efeitos nocivos deste composto na infertilidade masculina humana, causando alterações hormonais e nas características do sémen. No entanto estas conclusões carecem de estudos científicos mais robustos e reprodutíveis. Ainda assim, e uma vez que a infertilidade masculina é cada vez mais prevalente, devem ser tomadas medidas preventivas, a fim de salvaguardar a fertilidade do homem.

Palavras-chave

BPA; Disruptor Endócrino; Toxicidade Reprodutiva; Infertilidade; Reprodução Masculina.

Abstract

Endocrine disruptors (EDs) can have a harmful effect on the human body's endocrine system. They are defined by the US Environmental Protection Agency as “an agent that interferes with the synthesis, secretion, transport, binding or elimination of naturally occurring hormones in the body responsible for maintaining homeostasis, reproduction, development and/or behavior”. By interfering with the hormone system, they produce adverse effects on the development, reproduction, neurological, cardiovascular, and immune systems and metabolism in both humans and wildlife. According to the World Health Organization, EDs are mostly man-made, found ubiquitously in our daily lives, notably in pesticides, metals, additives or contaminants in food and personal care products. Human exposure occurs through ingestion of food, dust and water, through inhalation of gases and particles in the air and through the skin. Bisphenol A (BPA) is a proven endocrine disruptor capable of mimicking or blocking receptors and altering hormone concentrations and metabolism. Although consumed in low doses, it can stimulate cellular responses and affect the body's functions. In humans, increased exposure to BPA has been correlated with the onset or development of several diseases, health problems and medical conditions. This literature review aimed to verify the effects of BPA on human male infertility, using the most recently published literature. Thus, this review allowed us to conclude that there seem to be harmful effects of this compound on human male infertility, causing changes in hormonal and semen characteristics. However, these conclusions lack more robust and reproducible scientific studies. Even so, and since male infertility prevalence is increasing, preventive measures must be taken to ensure male fertility.

Keywords

BPA; Endocrine Disruptor; Reproductive Toxicity; Infertility; Male Reproduction.

Índice

1.	Introdução	1
2.	Métodos	3
3.	Bisfenol A.....	4
3.1	Propriedades Físico-Químicas	4
3.2	Produção e Aplicação	4
3.3	Fontes de exposição	5
3.3.1	Alimentos.....	6
3.3.2	Água	7
3.3.3	Ar	8
3.3.4	Solo	8
3.3.5	Contacto Dérmico	9
3.4	Conjugação, Metabolização e Excreção	9
3.5	Deteção em amostras biológicas	10
3.6	Mecanismos de Ação	11
4.	Efeitos do Bisfenol A na Infertilidade Masculina Humana.....	13
4.1	Estudos Epidemiológicos Observacionais	15
5.	Conclusão	26
6.	Referências Bibliográficas	28

Lista de Figuras

Figura 1. Possíveis efeitos do Bisfenol A no Homem.....	2
Figura 2. Estrutura química do Bisfenol A.	4
Figura 3. Formação do Bisfenol A.	5
Figura 4. Glucoronização do Bisfenol A no Homem.	10
Figura 5. Possíveis mecanismos através dos quais o Bisfenol A pode comprometer a fertilidade masculina.	13

Lista de Tabelas

Tabela 1. Estudos epidemiológicos e respectivas conclusões gerais.	23
---	----

Lista de Acrónimos e Siglas

DE	Disruptores endócrinos
OMS	Organização Mundial de Saúde
BPA	Bisfenol A
UGT	Uridina difosfato glicuronosiltransferase
E2	17 β -estradiol
ER α	Recetor de estrogénio alfa
ER β	Recetor de estrogénio beta
PPAR- γ	Recetor ativado por proliferador de peroxissoma gama
AR	Recetor de androgénios
ER	Recetor de estrogénios
FSH	Hormona estimuladora de folículos
T	Testosterona
LH	Hormona luteinizante
TL	Testosterona livre
AD	Androstenediona
FAI	Índice de androgénios livres
SHGB	Globulina transportadora de hormona sexuais
TT	Testosterona total
FLG	Filagrina
ICSI	Injeção Intracitoplasmática de espermatozoides
NR	Recetores nucleares
AhR	Recetor de hidrocarboneto Arilo
PXR	Recetor de pregnano X

1. Introdução

Os disruptores endócrinos (DE) podem ter um efeito nocivo no sistema endócrino (1). São definidos pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América como "um agente que interfere com a síntese, secreção, transporte, ligação ou eliminação de hormonas naturais no organismo responsáveis pela manutenção da homeostasia, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento (2). Ao interferir com o sistema hormonal, produzem efeitos adversos no desenvolvimento, reprodução, sistema neurológico, cardiovascular, imunológico e metabolismo, tanto em seres humanos como na vida selvagem. Estes efeitos podem ser observados muito tempo depois da exposição, podendo também ter consequências para a geração seguinte, ou seja, podem variar dependendo do tempo de exposição e do equilíbrio hormonal do indivíduo exposto, que é determinado pela idade, sexo e outros fatores (1,3).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), os DE são maioritariamente fabricados pelo homem, encontrados em diversos materiais, tais como pesticidas, metais, aditivos ou contaminantes nos alimentos e produtos de higiene pessoal. A exposição humana ocorre através da ingestão de alimentos, poeiras e água, através da inalação de gases e partículas no ar e através da pele. Pode haver também passagem para o feto através da placenta e para as crianças através do leite materno (1). Mais especificamente, os adultos entram em contacto principalmente através da ingestão de água potável contaminada, carne, produtos lácteos gordos e inalação de ar poluído, já os bebés são contaminados pela amamentação, contacto com produtos para bebés e também por inalação de ar poluído (2).

Os DE são altamente heterogéneos e podem ser classificados de duas maneiras, naturais e sintéticos, ou agrupados consoante a sua origem (2). São ainda considerados como "camaleões químicos", ou seja, têm diferentes mecanismos de ação consoante o valor da sua concentração e consoante a fase de desenvolvimento do tecido afetado (3). Exemplo mais concretos destes disruptores endócrinos são: dietilestilbestrol, bisfenol A, ftalatos, éteres difenílicos polibromados, parabenos, entre outros (1).

O Bisfenol A (BPA) é um disruptor endócrino capaz de imitar ou bloquear recetores e alterar as concentrações hormonais e o seu metabolismo. Apesar de ser consumido em doses baixas, pode estimular respostas celulares e afetar as funções do corpo (4). Nos seres humanos, o aumento dos níveis de BPA tem sido correlacionado com o aparecimento ou desenvolvimento de várias doenças, problemas de saúde e condições médicas (5). Pode ter diversos efeitos, não só em todo o organismo, mas também em

diferentes fases do ciclo de vida (6). Na figura 1 é possível observar alguns destes possíveis efeitos nefastos para a saúde humana.



Figura 1. Possíveis efeitos do Bisfenol A no Homem. Adaptado de (5).

O BPA parece provocar uma toxicidade multi-sistêmica e multi-órgãos em modelos animais, no entanto, os efeitos da exposição nos seres humanos ainda precisa de muitas repostas a diversas perguntas, sendo necessária mais investigação (7). Assim, esta substância representa um importante desafio para a atual sociedade industrializada, sendo necessária uma avaliação do impacto geral na saúde humana, uma vez que estamos continuamente expostos a este composto.

A literatura disponível aponta para que o sistema reprodutivo possa ser um dos principais alvos de toxicidade do BPA, conseguindo interferir negativamente na fertilidade do homem. Assim, com a presente revisão da literatura procura-se reunir, atualizar e resumir a informação existente sobre os efeitos desta substância na infertilidade masculina humana.

2. Métodos

Para elaboração desta dissertação fez-se uma pesquisa bibliográfica durante os meses de setembro de 2022 a janeiro de 2023, utilizando os motores de busca Pub MED, Scopus e Google Scholar. Como palavras-chave foram usados os seguintes itens: (bisphenol A) AND (endocrine disruptor); (bisphenol A) AND (reproduction); (bisphenol A) AND (male reproductive system); (bisphenol A) AND (reproduction OR fertility OR infertility); (bisphenol A) AND (spermatogenesis OR sperm). Foi dada prioridade aos artigos dos últimos dez anos para estudar as consequências do BPA na infertilidade masculina do homem, sem nunca excluir artigos mais antigos que fossem importantes na elaboração, principalmente, da introdução e aspectos gerais do BPA. Foram selecionando artigos que abordassem as alterações hormonais e das características do sêmen, em inglês e com acesso integral ao texto.

3. Bisfenol A

3.1 Propriedades Físico-Químicas

O BPA, também designado pela IUPAC como 4,4'-dihidroxi-2,2-difenilpropano, é um disruptor endócrino que possui atividade estrogénica (8). Foi sintetizado pela primeira vez pelo cientista russo Aleksandr P. Dianin, em 1891, sendo mais tarde investigado, na década de 1930, durante a procura de estrogénios sintéticos (6). É um composto orgânico sintético, $C_{15}H_{16}O_2$, que pertence a um grupo de fenóis, e tem resíduos de hidroxilo diretamente ligados ao anel aromático (9).

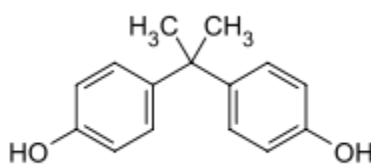


Figura 2. Estrutura química do Bisfenol A.

À temperatura ambiente, o BPA é uma substância sólida, branca, cristalina e de odor suave, tem uma massa molecular de 228,29 g/cm³, um ponto de fusão de 156°C e um ponto de ebulição de 220°C (a uma pressão de 5 hPa). Além disso, tem um coeficiente de partição octanol-água de 3,32, indicando que tem uma boa solubilidade em gorduras, logo, uma baixa solubilidade em água (~200 mg/dm³ a 25°C). A presença de grupos hidroxilo determina a sua boa reatividade. Tal como outros fenóis, o BPA pode ser convertido em éteres, ésteres e sais (9).

O BPA não ocorre livremente na natureza e quando exposto ao ar sofre foto-oxidação e degradação resultando num tempo de semi-vida baixo (0,2 dias) (4).

3.2 Produção e Aplicação

A presença de BPA no meio ambiente está ligada apenas à atividade antropogénica, sendo considerada uma das substâncias químicas mais produzidas em todo o mundo (6,9). A produção global de BPA aumentou gradualmente de 5 para 8 milhões de toneladas durante o período 2010-2016 e estima-se que atinja 10,2 milhões até 2023. Registou-se um aumento proeminente da produção nos mercados emergentes da China, Índia, Rússia e México (4). Devido à sua produção em massa, um grande número de derivados desta substância são libertados para o ambiente, contribuindo assim para um aumento da poluição e contaminação dos solos e águas subterrâneas (10).

Nos anos 50, observou-se que o BPA podia ser polimerizado para fazer plástico policarbonato, um produto milagroso, barato, leve, transparente, colorível, resistente ao impacto, ao calor e aos químicos, inalterável com o tempo e fácil de moldar e termoformar (11). O processo de manufatura envolve a reação entre uma acetona e dois fenóis num processo contínuo e fechado sob determinadas condições de temperatura, utilizando um catalisador ácido. A substituição de átomos em diferentes números e posições resulta na formação de compostos análogos, com características específicas destinadas a uma variedade de aplicações industriais (12).

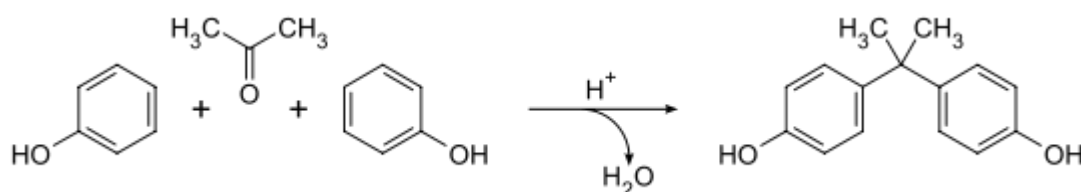


Figura 3. Formação do Bisfenol A. Adaptado de LibreTexts Chemistry.

Atualmente é utilizado como material para a produção de resinas de fenol, poliacrílicos e poliésteres, mas principalmente para a produção de resinas epóxi e plásticos policarbonato. As resinas epóxi são utilizadas como revestimentos em latas de conservas, tampas de frascos metálicos, revestimentos e acabamentos protetores, peças de automóveis, adesivos, aplicações aeroespaciais e como revestimento para tubos de PVC. Os plásticos de policarbonato são utilizados no fabrico de lentes automóveis, eletrodomésticos, embalagens de alimentos, garrafas de plástico, chupetas e ainda brinquedos (8). O BPA é também usado, desde a década de 1960, como um componente de muitos materiais de restauração dentária (13). Além disso, nos últimos anos, as suas utilizações têm-se expandido para produzir materiais óticos e eletrónicos (14).

Apesar de todas as aplicações, a preocupação dos consumidores com as possíveis consequências para o ser humano resultou em produtos "BPA free" e no desenvolvimento de análogos de bisfenol para substituir o BPA. No entanto, estes outros derivados parecem ter também efeitos deletérios semelhantes, sendo que alguns deles ainda se mostraram mais tóxicos (15).

3.3 Fontes de exposição

O grau de exposição ao BPA pode variar drasticamente, consoante os diversos fatores socioeconómicos, estilo de vida, comorbilidades e vias de exposição (9).

3.3.1 Alimentos

A principal fonte de contaminação por BPA nos seres humanos é através da alimentação, ou seja, comida e água (7,8). A sua presença em produtos comestíveis está relacionada com a exposição dos animais e matérias-primas ao BPA, a acumulação deste no ambiente e o contacto de alimentos com polímeros que contenham esta substância (9).

A contaminação direta dos alimentos é causada pela migração do BPA presente nos recipientes em que são armazenados. As resinas epóxi produzidas com BPA são usadas como revestimento das superfícies de latas de metal que estão em contacto com alimentos e bebidas, enquanto os plásticos policarbonato são usados nos recipientes que transportam/armazenam alimentos e bebidas (8).

A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos considera que a ingestão diária tolerável de BPA seja 4 µg por quilograma de peso corporal por dia. Alegando que os níveis médios de exposição ao BPA estão muito abaixo da dose diárias toleráveis, o que não aumentará os riscos para a saúde de qualquer população, incluindo fetos, bebés e jovens (16). No entanto, está comprovado que a exposição a baixas doses de BPA causa alterações em órgãos hormono-sensíveis e está relacionada com uma vasta gama de doenças não transmissíveis (17). Já a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos da América fixa o valor tolerável diariamente em 50 µg/kg/dia (18).

Enlatados

Os principais fatores que influenciam a migração do BPA da superfície interna das latas são os tempos de aquecimento e as temperaturas utilizadas no processo de fabrico. A migração pode também ser afetada pelo tempo de armazenamento e durante o mesmo. Os alimentos que contêm níveis elevados de cloreto de sódio ou óleos vegetais podem favorecer a migração de BPA durante o aquecimento (8).

As latas usadas para a conservação de alimentos estão protegidas contra a ferrugem e a corrosão através da aplicação de resinas epóxi como revestimento interno. Muitas destas resinas são sintetizadas pela condensação do BPA com outras substâncias. Quando ocorre uma polimerização incompleta, o BPA residual pode lixiviar da resina epóxi, contaminando os alimentos armazenados (13). As concentrações de BPA são significativamente mais elevadas nos alimentos enlatados do que nos alimentos frescos (9).

Alternativas ao BPA em revestimentos de latas incluem poliéster, poliácrlato, resinas sintéticas e pastas de PVC. Cada uma destas opções teria custos mais elevados e poderia

exigir investimentos em novos equipamentos por parte dos fabricantes. Algumas destas alternativas também têm efeitos nocivos para a saúde (19).

Segundo a Comissão Europeia, a migração de BPA para os alimentos a partir de vernizes ou revestimentos aplicados a materiais e objetos não deve exceder um limite de migração específico de 0,05 mg de BPA por quilograma de alimento. No entanto, não é permitida a migração de BPA a partir de vernizes ou revestimentos aplicados a materiais e objetos especificamente destinados a entrar em contacto com fórmulas para lactentes infantis, fórmulas de transição, alimentos transformados à base de cereais, alimentos para bebés, alimentos para fins medicinais específicos desenvolvidos para satisfazer os requisitos nutricionais dos lactentes e crianças pequenas ou bebidas lácteas e produtos semelhantes especificamente destinados a crianças pequenas, tal como referidos no Regulamento (UE) n.º 609/2013 (16).

Recipientes plásticos

O BPA pode migrar de plásticos após lavagem e esterilização em soluções alcalinas ou em água quente (por exemplo, vapor) (8). O rácio de migração de BPA das garrafas de policarbonato para outras soluções varia de acordo com as suas propriedades químicas. A temperatura e o uso particularmente prolongado de garrafas aumentam a hidrólise do polímero causando uma migração mais intensa para a água (9).

O BPA está autorizado a ser utilizado como monómero em materiais plásticos de contacto com alimentos, de acordo com o Regulamento da Comissão (UE) n.º 10/2011. Além disso, o Regulamento de Execução da Comissão (UE) n.º 321/2011, que vem alterar o acordo atrás referido, impõe uma restrição à utilização de BPA no fabrico de biberões para crianças, segundo o princípio da precaução¹ (16).

3.3.2 Água

O BPA pode ser encontrado em águas residuais de fábricas, uma vez que não é completamente removido durante o seu tratamento. Estas águas residuais que contêm BPA podem ser uma fonte de contaminação do meio aquático. Foram também identificados elevados níveis de BPA em lixiviados provenientes de aterros sanitários (8). Já em águas superficiais geralmente encontra-se em baixas concentrações no entanto,

¹ O princípio da precaução pode ser evocado quando um fenómeno, um produto ou um processo pode ter efeitos potencialmente perigosos identificados por uma avaliação científica e objetiva, se esta avaliação não permitir determinar o risco com certeza suficiente. Definição retirada de EUR-Lex Access to European Union law.

perto de depósitos de resíduos contaminados com esta substância ou depósitos de lixo de materiais plásticos as concentrações são muito superiores (9).

O BPA nas águas fluviais pode ser degradado em condições aeróbias, mas não em condições anaeróbias. Apesar da degradação do BPA em água doce, por bactérias e luz solar, o tempo de meia-vida de 3 a 5 dias pode ser suficiente para causar efeitos nocivos nos organismos aquáticos, devido aos metabolitos que persistem. Curiosamente, o BPA pode persistir mais tempo na água do mar do que na água do rio sem qualquer degradação (cerca de 30 dias) e a fração bio disponível de BPA dissolvido pode aumentar com a salinidade. Assim, a possibilidade de contaminação de um organismo marinho pode ser maior do que um organismo de água doce. Por conseguinte, a partir do meio aquático, a ingestão de peixes de água doce ou de frutos do mar contaminados pelo BPA pode ser a principal via de contaminação para os seres humanos (8,19). Bactérias e outros microrganismos que efetivamente degradam esta substância podem ser úteis na sua remoção do meio ambiente poluído (9).

3.3.3 Ar

A inalação é a segunda principal fonte de exposição (7). O BPA é emitido para a atmosfera em resultado da atividade industrial, onde pode permanecer devido à sua adesão à matéria particulada. No entanto, a possibilidade de inalar altos níveis de BPA através do ar é muito baixa (4,8,9). Devido às grandes quantidades produzidas anualmente, os trabalhadores das empresas que se dedicam à produção de plásticos são uma exceção (13).

Os diversos artigos domésticos fabricados a partir de BPA, tais como chão feito à base de epóxi e equipamentos eletrónicos, podem libertar e volatilizar este composto com a utilização prolongada. Consequentemente, o BPA pode acumular-se no pó da casa e ser inalado (7).

3.3.4 Solo

A principal fonte de BPA nos solos é a aplicação terrestre de lamas de esgoto ou bio sólidos e resíduos humanos. O BPA libertado para as águas subterrâneas ou superficiais pode ser absorvido pelo solo ou pelos sedimentos. Constata-se que existem níveis de BPA mais elevados nos sedimentos que nas águas superficiais. No entanto, a contaminação do solo pode ser correlacionada com a densidade populacional devido ao aumento de resíduos humanos contaminados com BPA, como resíduos domésticos e/ou industriais. (8,19).

Pensa-se que o BPA tem uma afinidade moderada com a matéria orgânica do solo e, portanto, é improvável que seja móvel ou bio disponível nos solos. No entanto, a mobilidade pode ser afetada pela química e textura do solo. Existem evidências de um aumento da sorção de BPA na presença de ferro, cádmio e chumbo e uma rápida e completa dessorção em solos arenosos e ácidos (19).

3.3.5 Contacto Dérmico

O risco para a saúde através do contacto com o BPA resume-se praticamente à dermatite de contacto alérgica. Uma doença ocupacional em que o mecanismo ainda não está completamente esclarecido. A maioria das dermatites ocorre em trabalhadores que lidam com produtos à base de BPA, como trabalhadores na produção de plásticos, trabalhadores expostos a fitas adesivas e espumas epóxi. Esta doença ocupacional pode ser mais severa se a exposição ao agente causal for prolongada e constante (8). O número de trabalhadores expostos ao BPA é relativamente baixo, no entanto, condições de trabalho inadequadas e falta de adaptação do código de segurança, particularmente nos países menos desenvolvidos, podem provocar efeitos mais graves (9).

Outra forma de contacto dérmico é o papel térmico, produzido com BPA. Comumente usado no nosso dia-a-dia, em recibos/talões de compras, bilhetes de cinema, cartões de embarque, etc. Geralmente, o BPA entra no corpo humano por absorção dérmica e este processo pode ser afetado pela humidade e gordura da pele (7).

O BPA das fontes não dietéticas carece de metabolismo de primeira passagem após a absorção logo, a sua potencial toxicidade no ser humano pode ser mais severa e deve ser tida em conta (7).

3.4 Conjugação, Metabolização e Excreção

Nos humanos o BPA administrado oralmente é rápida e eficientemente absorvido através do trato gastrointestinal (>95% da dose) e posteriormente metabolizado no fígado, o qual desempenha um papel essencial no metabolismo desta substância (6,7,20). A sua glucuronidação, principal via de biotransformação, é uma reação de desintoxicação e é efetuada pela uridina difosfato glicuronosiltransferase (UGT), uma glicosiltransferase presente no fígado. A UGT no fígado fetal humano está presente numa concentração cinco vezes mais baixa do que no fígado adulto; isto significa que um feto pode enfrentar um maior risco de efeitos deletérios (7,8). Este processo aumenta a solubilidade do BPA em água, o que leva a uma excreção mais rápida na urina (tempo de semi-vida de 5,4-6,4 h) (21).

O glucoronídeo de BPA, com pouca ou nenhuma atividade estrogénica, é o principal metabolito encontrado na urina, já o BPA livre ou não conjugado, considerado a forma ativa, é o principal componente presente nas fezes (8,20). Mais de 99% do BPA livre e respetivos metabolitos são excretados nas fezes e urina e menos de 1% fica acumulado nos tecidos (8). Alguns estudos sugerem que pode haver diferenças de género nas concentrações de metabolitos na urina, tendo as mulheres níveis mais elevados de sulfato de BPA e os homens níveis mais elevados de glucoronídeo de BPA (6,8).

O BPA é também conjugado *in vivo* em sulfato de BPA por sulfotransferases encontradas no fígado; a sulfatação do BPA elimina a sua atividade estrogénica (6,20).

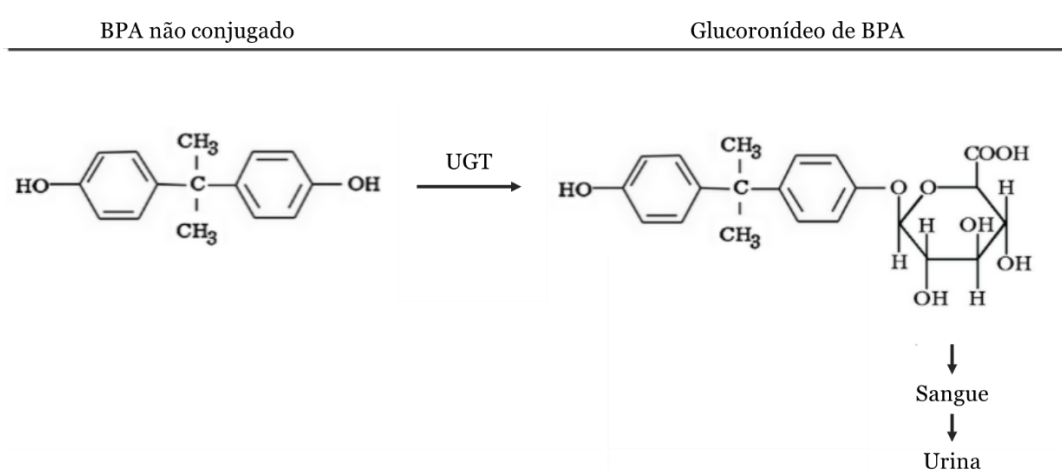


Figura 4. Glucoronização do Bisfenol A no Homem. Adaptado de (10).

No entanto, ao contrário da exposição alimentar, quase todo o BPA resultante da exposição transdérmica evita o metabolismo hepático, resultando em concentrações significativamente mais elevadas da forma não conjugada (BPA livre) na corrente sanguínea (21).

3.5 Deteção em amostras biológicas

Devido ao desenvolvimento de técnicas analíticas altamente sensíveis, a utilização da biomonitorização está a desempenhar um papel cada vez mais importante na avaliação da exposição, uma vez que, ao incorporar conhecimentos sobre toxicocinética e biotransformação do composto de interesse e as limitações dos métodos analíticos, a biomonitorização dá informações mais exatas sobre a exposição real a um agente em comparação com as avaliações indiretas. Esta técnica mede diretamente as exposições humanas diárias ou cumulativas aos xenobióticos através da determinação das concentrações da substância química ou dos seus metabolitos no sangue, urina ou tecidos (20).

Dada a prevalência do BPA no nosso ambiente, não é de estranhar que tenham sido detetados níveis mensuráveis na maioria dos indivíduos já analisados, sendo possível detetar a presença de BPA em tecidos e fluidos humanos, incluindo sangue materno (0,3 – 18,9 ng/mL), urina materna (31,9 µg/L), líquido amniótico (mediana=0,26 ng/mL), tecido placentário (mediana=12,7 ng/g), sangue do cordão umbilical (0,2-9,2 ng/mL), leite materno (0,61-0,7 µg/L) e colostro humano (3,41 ng/mL) (5,9,13). Concentrações de BPA não conjugado no soro humano são detetadas em níveis que variam entre 0,2 e 20 ng/ml (13). Dependendo da via pela qual o indivíduo é exposto, os níveis de BPA na circulação também poderão ser diferentes (6). Como a maior parte do BPA consumido oralmente é excretado na urina (concentração varia entre 1,6 e 946 µg/L) em menos de 24h após o consumo, e as concentrações esperadas no sangue serem muito baixas, a urina é o fluido corporal preferido para a estimativa da exposição ao BPA em humanos (20).

Vários estudos examinaram os níveis de BPA no soro de mulheres grávidas, sangue do cordão umbilical e plasma fetal. Os resultados destes estudos indicam que esta substância atravessa a barreira placentária. São particularmente preocupantes os níveis elevados detetados principalmente em fases de desenvolvimento com uma possível maior sensibilidade ao BPA (13).

O BPA pode acumular-se em fetos devido a uma menor *clearance* metabólica. O feto ao engolir líquido amniótico, permite que o BPA seja conjugado pelo fígado fetal. Assim o feto é suscetível à exposição de BPA durante todo o desenvolvimento e pode estar exposto a níveis ainda mais elevados do que os medidos no sangue do adulto. Outras considerações importantes para a saúde do recém-nascido é a exposição potencial de BPA no leite materno, uma vez que é um composto com propriedades lipofílicas (13). Ao ter carácter lipofílico pode acumular-se no tecido adiposo, inclusive na gordura das glândulas mamárias, e causar desregulação em vários processos metabólicos, quer no bebé quer no adulto (7,9).

3.6 Mecanismos de Ação

O BPA, com uma estrutura similar ao 17β-estradiol (E2), liga-se tanto ao recetor de estrogénio alfa (ERα) como ao recetor de estrogénio beta (ERβ), com aproximadamente 10 vezes mais afinidade para o ERβ, e ainda ao recetor de estrogénio acoplado à proteína G (GPER), ao recetor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PPAR-γ) e ao recetor gama de estrogénio nuclear órfão (ERR-γ) (22). A ligação a estes recetores pode

levar a outras alterações nas células e tecidos, e não apenas a perturbações endócrinas (21).

É hoje amplamente aceite que o BPA não só tem a eficácia do E2 como também é igualmente potente em relação a vários dos seus efeitos (6). Além disso, pode agir como um anti estrogénio, bloqueando a resposta estrogénica ao competir com o E2 endógeno. Pode também ligar-se diretamente aos recetores de androgénio (AR), sendo possivelmente anti-androgénico, bloqueando a ação andrógena endógena (23). Perturba o eixo hipotálamo-hipófise-testículo e modula a expressão genética e a atividade enzimática da esteroidogénese testicular. Está também associado a uma diminuição da atividade do sistema antioxidante, resultando num aumento do stress oxidativo, a causa mais comum de danos nos espermatozoides (15).

Os estrogénios endógenos têm vários efeitos a nível biológico, desde todo organismo até aos sistemas de órgãos, células e expressão génica (6). Têm um papel fundamental no testículo, uma vez que a biossíntese destes ocorre nas células testiculares. A ausência de recetores de estrogénio (ER) causa efeitos adversos na espermatogénese e síntese de esteroides. Os níveis fisiológicos de E2 são essenciais para uma espermatogénese normal, já um excesso, juntamente com a diminuição da testosterona, ocorrem na infertilidade (24).

Além da sua atividade estrogénica, existem algumas evidências de que se liga ao recetor hormonal da tiroide, atuando como um antagonista, impedindo a ligação da T3 (6). A afinidade do recetor da tiroide é inferior à afinidade para o recetor de estrogénio, sugerindo que seriam necessários níveis elevados de BPA para antagonizar a ação hormonal da tiroide (5).

Embora os mecanismos de ação ainda não sejam totalmente compreendidos, o BPA também interage com outros órgãos e sistemas, incluindo o desenvolvimento do sistema nervoso central, o pâncreas endócrino, o sistema imunitário, a função das hormonas sexuais, insulina, leptina e adiponectina. Estes efeitos não-genómicos do BPA podem também ser responsáveis pelo desenvolvimento de vários tipos de cancro, como por exemplo, o cancro da mama, pâncreas, hipófise, córtex cerebelar e coração (9,23). Exerce efeitos multidirecionais uma vez que interage com diversos recetores, gera espécies reativas de oxigénio, altera a sinalização celular, provoca alterações mutagénicas e inibe a metilação do ADN (9).

4. Efeitos do Bisfenol A na Infertilidade Masculina Humana

A exposição generalizada e contínua ao BPA em seres humanos foi confirmada por estudos de biomonitorização na população geral, em que mais de 80% dos participantes tinha níveis detetáveis na urina (25). A análise dos dados da literatura disponível indica que o sistema reprodutivo é um dos alvos de toxicidade do BPA. Esta substância atua principalmente “imitando” o efeito do estrogénio, modificando a metilação do ADN e modulando atividades enzimáticas, resultando em doenças metabólicas, defeitos da espermatogénese e/ou infertilidade nos homens. O efeito deletério na função reprodutiva masculina pode ocorrer durante a vida embrionária, pubertária e/ou adulta (26).

Os efeitos endócrinos perturbadores do BPA na saúde reprodutiva masculina têm suscitado preocupações ao longo das últimas décadas e os estudos já existentes relatam que a exposição a este tóxico está associada a uma redução da contagem de espermatozoides, um agravamento da motilidade e velocidade do esperma, uma diminuição do peso do epidídimo, uma deficiente sinalização da insulina e homeostasia da glicose, uma diminuição dos esteroides nos testículos e uma diminuição dos níveis da hormona estimuladora de folículos (FSH) e testosterona (T) no soro. No entanto, estas observações baseiam-se em estudos com modelos animais ou em experiências *in vitro*.

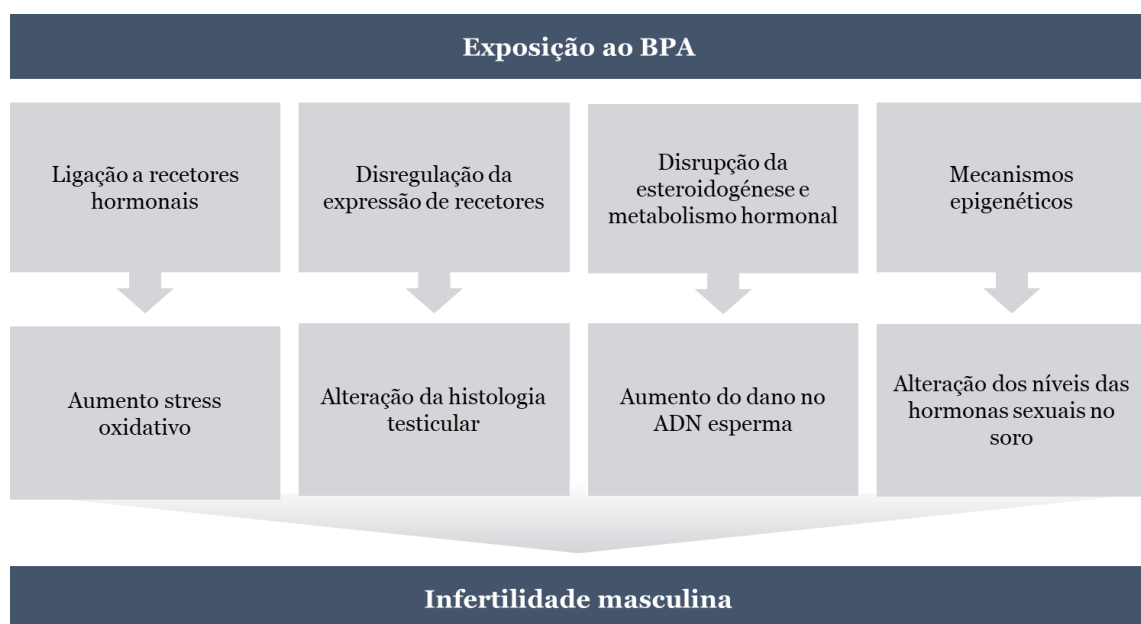


Figura 5. Possíveis mecanismos através dos quais o Bisfenol A pode comprometer a fertilidade masculina. Adaptado de (18).

Os estudos sobre o efeito do BPA no sistema reprodutivo masculino humano são ainda limitados e o mecanismo molecular subjacente permanece incerto (27–29).

A infertilidade é um dos principais problemas de saúde que afetam a vida sociocultural humana e define-se, segundo a OMS, como “a incapacidade de alcançar uma gravidez clínica após 12 meses ou mais de relações sexuais desprotegidas regulares”(30). Existem dois tipos, a infertilidade primária, que se refere a casais que nunca tiveram um filho, e a secundária, que se refere a casais inférteis que já conseguiram engravidar pelo menos uma vez antes (31). Afeta 8 a 15% dos casais em todo o mundo, com tendência para aumentar nos próximos anos, e cerca de 50% dos casos são atribuídos a fatores masculinos (26). Fatores de risco para a infertilidade masculina incluem: varicocele, envelhecimento, doenças sexualmente transmissíveis, fatores de estilo de vida e exposição prolongada ou intensa a determinados tipos de toxinas, produtos químicos, radiação, medicamentos e tóxicos ambientais (32,33). Todos estes fatores podem levar a uma baixa contagem (oligospermia) ou ausência de espermatozoides (azoospermia) e ainda a diversas alterações morfológicas (33).

Esta prevalente condição médica está relacionada com a disfunção da glândula pituitária e das gónadas masculinas. As funções testiculares incluem a produção de testosterona e a espermatogénese, ambas reguladas pelo eixo hipotálamo-hipófise-gónadas através de um sistema de *feedback* negativo. Este eixo é ainda influenciado por outros órgãos endócrinos, tais como a glândula suprarrenal e o tecido adiposo (34).

Durante a espermatogénese, são criados gâmetas diariamente nos túbulos seminíferos. Todas as fases do processo são reguladas pelo sistema hormonal, em particular pela T, E2, FSH e hormona luteinizante (LH). Os mecanismos que levam à infertilidade masculina não são completamente claros, embora as alterações no equilíbrio hormonal, particularmente durante o desenvolvimento de espermatozoides, possam afetar a qualidade destes (35). A sua disfunção, desencadeada por disruptores endócrinos, como o BPA, pode resultar na detenção ou alteração da espermatogénese, afetando negativamente a produção e qualidade do esperma (26,36). A espermatogénese é um processo complexo que envolve fatores genéticos, hormonais e ambientais, o fracasso de qualquer um destes pode resultar em infertilidade. Estudos recentes têm demonstrado um declínio na qualidade do sémen em vários países, tanto nos países em desenvolvimento como nos países desenvolvidos, enfatizando novamente o papel dos tóxicos ambientais como causa para este fenómeno (37).

Nesta secção, procuram-se encontrar possíveis efeitos do BPA nos diversos aspetos da infertilidade masculina, incorporando dados provenientes de diversos estudos científicos.

4.1 Estudos Epidemiológicos Observacionais

Em estudos prévios a 2013, realizados em modelos animais, observaram que o BPA, embora com evidência limitada, era um tóxico testicular, uma vez que diminuía a qualidade e motilidade do esperma, causava stress oxidativo e alterava a síntese de esteroides. No referente aos efeitos do BPA em humanos, os dados eram inconsistentes, com evidência limitada e sem causalidade provada. Estes estudos apenas associavam a exposição ao BPA à disfunção sexual, sendo apenas observada quando esta exposição era ocupacional e de níveis elevados (5,36).

Assim, apenas três estudos anteriores a 2013 serão mencionados neste trabalho, Meeker et al. (2010), Mendiola et al. (2010) e Li et al. (2011), devido à sua relevância para o tema que será abordado neste item. As conclusões gerais destas investigações revelaram que homens (n=218) expostos ao BPA no local de trabalho (38) e homens (n=140) recrutados de uma clínica de infertilidade (39) tinham uma diminuição da concentração de espermatozoides e motilidade associadas à concentração urinária de BPA. No estudo de homens férteis (n=375) a exposição a baixos níveis ambientais de BPA pode estar associada a uma redução modesta dos marcadores da testosterona livre (TL), mas quaisquer efeitos na função reprodutiva são suscetíveis de ser pequenos, e de significado clínico incerto (40).

Até ao momento, desde 2013, vários estudos têm investigado as associações entre a exposição ao BPA na idade adulta e a fertilidade em diferentes populações de homens (por exemplo, exposição ocupacional, população fértil ou potencialmente infértil, população geral ou jovens desconhecendo a sua fertilidade), mas os resultados continuam a ser contraditórios e insuficientes (29). Como a exposição humana *in vivo* não é viável para avaliar os efeitos do BPA na fertilidade masculina, devido a questões éticas, a evidência escassa disponível provém de estudos epidemiológicos observacionais (41).

Nos testículos, as hormonas esteroides desempenham um papel importante na espermatogénese, na produção de sémen e na manutenção dos caracteres sexuais secundários e da libido. Podem também desempenhar um papel como alvo dos disruptores endócrinos (42). O aumento das concentrações de BPA no homem poderá estar associado a níveis hormonais alterados e, portanto, a uma possível disfunção

reprodutiva (43). Em relação aos estudos que caracterizam os parâmetros de qualidade do sémen, a análise do espermograma ou do sémen permite avaliar a função do testículo e tem um valor prognóstico na avaliação da fertilidade. O espermograma constitui a pedra basilar na avaliação da infertilidade masculina (34).

Num estudo transversal realizado na China, Zhou et al. avaliaram a associação entre os níveis de BPA no soro e as hormonas sexuais. A amostra apresentava um total de 290 homens, nos quais 137 trabalhavam numa fábrica onde eram expostos ao BPA e 153 numa fábrica sem essa exposição. Concluíram que o aumento da concentração de BPA no soro se associa à diminuição dos níveis de androstenediona (AD), à diminuição dos níveis de TL, à diminuição do índice de androgénio livre (FAI) e ao aumento dos níveis de globulina transportadora de hormonas sexuais (SHGB). Já em estudos mais antigos dos mesmos autores estes referem ter encontrado um risco acrescido de disfunção sexual masculina e redução da qualidade do esperma associado à elevada exposição ao BPA (27).

Lassen et al. estudaram uma amostra representativa da população geral com 308 jovens dinamarqueses. Concluíram que a exposição ao BPA está associada a concentrações mais elevadas de T, LH, E2 e TL, bem como uma menor percentagem de espermatozoides progressivos. Não foi detetada uma associação para outros parâmetros característicos do sémen (25).

Zhuang et al. utilizaram uma amostra de 281 trabalhadores chineses expostos ao BPA e 278 controlos. Tanto as concentrações de BPA no soro como as taxas de deteção foram maiores nos homens expostos do que nos não expostos, embora os dois grupos não apresentassem diferenças nos níveis séricos de SHBG, testosterona total (TT), inibina B ou AD. Em comparação com a exposição durante menos de 5 anos, a exposição durante mais de 5 anos foi associada ao aumento dos níveis de soro de BPA e SHBG e diminuição dos níveis de AD. A exposição ao BPA foi negativamente associada ao nível sérico de AD, mas positivamente associada ao nível sérico de SHBG. Em suma, a exposição ocupacional crónica ao BPA está associada a níveis alterados de hormonas sexuais masculinas e poderá afetar a saúde reprodutiva masculina (43).

As alterações hormonais foram também detetadas num estudo de Liu et al. que recrutou 592 trabalhadores chineses, com e sem exposição laboral ao BPA, e recolheu amostras de urina e sangue. Concluíram que a elevada exposição ao BPA está associada ao aumento dos níveis de prolactina, E2 e de SHGB e a uma diminuição da FSH, AD e FAI nos homens, o que poderá contribuir para a infertilidade masculina (44).

Em estudos mais recentes, Liang et al., estudaram amostras de urina e sangue de 560 homens, entre os 18 e os 55 anos, recrutados de uma área montanhosa pouco industrializada da China. Examinaram se a exposição ao BPA ambiental a um nível mais baixo tem efeitos adversos nas concentrações séricas das hormonas gonadotróficas. Concluíram que a exposição ambiental ao BPA está associada ao aumento dos níveis séricos de LH e FSH em fumadores masculinos, juntamente com a diminuição dos níveis séricos de TT em homens com IMC >25 kg/m². Estes resultados sugerem que os efeitos da exposição ambiental ao BPA nos níveis hormonais podem ser modificados pelo fumo do tabaco e pelo IMC (45).

Num estudo de caso-controlo, Joensen et al., mostraram que certos sectores da população podem diferir no que diz respeito ao efeito que a exposição ao BPA pode ter. Este estudo específico investigou a associação entre a exposição ao BPA e a função testicular em 65 jovens dinamarqueses com mutações no gene da filagrina² (FLG) e 130 sem esta mutação, sendo este último grupo utilizado como controlo. Dentro do grupo de portadores da mutação FLG, concentrações urinárias mais elevadas de BPA foram associadas a níveis mais elevados de T e E2 séricos e FSH mais baixos. Jovens com valores mais elevados de BPA urinário tinham uma motilidade espermática inferior. Nenhuma destas associações era evidente no grupo de controlo. A diferença identificada entre portadores e não portadores de mutação FLG não foi explicada apenas pelas diferenças nos níveis de exposição de BPA, uma vez que os níveis urinários não diferiam entre os dois grupos (46).

Um estudo de Knez et al., que envolveu 149 casais de uma clínica de infertilidade submetidos ao seu primeiro ou segundo procedimento de injeção intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI), avaliou as concentrações urinárias de BPA, em parceiros masculinos, e a sua relação com parâmetros de qualidade do sémen. Concluíram então que um aumento da concentração de BPA está associada a uma menor contagem de espermatozoides, menor concentração de esperma e menor vitalidade do esperma (47).

Num estudo que comparou homens expostos (n=77) e não expostos (n=72) profissionalmente ao BPA em várias fábricas chinesas concluiu que os homens expostos apresentavam uma menor concentração de esperma quando comparados com o grupo

² A filagrina é uma proteína crucial para a função normal de barreira cutânea. A maioria dos indivíduos com a mutação, por perda de função da FLG, não apresenta sinais clínicos de inflamação cutânea, mas a sua função de barreira cutânea é frequentemente reduzida (45).

de controlo. Concluíram também que níveis mais elevados de BPA urinário estavam associados a um menor grau de metilação do ADN espermático (48).

A investigação de Den Hond et al. teve como objetivo verificar se uma maior exposição aos disruptores endócrinos estava associada a um aumento da subfertilidade nos homens, para isso utilizaram amostras de sémen, urina e sangue de 163 homens de quatro clínicas de fertilidade da Bélgica. Concluíram que os níveis aumentados de BPA estão associados a uma diminuição da T sérica e a um maior risco de subfertilidade (49).

La Rocca et al. analisaram os níveis de BPA no soro de 70 homens inférteis e 83 homens férteis de áreas metropolitanas, urbanas e rurais italianas. O objetivo era avaliar se as áreas residenciais, com diferentes níveis esperados de BPA, apresentavam diferentes resultados de potenciais infertilidades. Foram também estudadas células mononucleares do sangue periférico e os níveis de expressão genética de um painel de recetores nucleares (NR), nomeadamente ER α e ER β , AR, recetores de hidrocarbonetos arilo (AhR), PPAR γ e recetores de pregnano X (PXR). Os homens inférteis da área metropolitana apresentavam níveis significativamente mais elevados de BPA e expressão génica de todos NR, exceto PPAR γ , em comparação com indivíduos de outras áreas. A expressão de ER α , ER β , AR, PXR e AhR está diretamente correlacionada com o BPA. Os resultados reforçam o conceito de que o ambiente de vida determina o principal padrão de exposição aos disruptores endócrinos na população. Além disso, confirmam a viabilidade do painel de NR como um potencial biomarcador para avaliar o impacto dos DE na saúde reprodutiva (50).

Vitku et al. determinaram os níveis de BPA e estrogénios no plasma sanguíneo e plasma seminal de 174 homens com diferentes graus de infertilidade. Observaram uma alteração no metabolismo do E₂ e na contagem de espermatozoides. Concluindo que existe uma associação inversa entre a concentração de BPA seminal e a contagem e concentração do esperma. Ou seja, o BPA contribui ligeira, mas significativamente, para a qualidade final do esperma (24). Ainda deste autor surge uma outra investigação onde tentaram perceber quais os efeitos do BPA na espermatogénese e na síntese de esteroides. Usaram uma amostra semelhante ao estudo anterior e obtiveram as mesmas conclusões, que o BPA presente no plasma seminal pode contribuir negativamente para a qualidade do esperma. Além disso, os resultados indicam que o BPA influencia a síntese de esteroides gonadal e suprarrenal em diversas etapas. Elevados níveis seminais de BPA foram associados a uma significativa diminuição do número de espermatozoides, concentração e morfologia. Mais ainda, o BPA reduz a taxa de esteroidogénese testicular, mas aumenta a taxa de síntese nas glândulas adrenais. A perturbação adicional da esteroidogénese pelo

BPA ocorre possivelmente a nível do metabolismo do E2 através da supressão do seu catabolismo ou através da estimulação da expressão e/ou atividade da aromatase (42).

Mais recentemente, um outro estudo transversal, que também avaliou a associação entre a concentração urinária de BPA e os níveis de qualidade do sémen e hormonas reprodutivas, concluiu que existe uma redução da capacidade das células de Leydig (aumento dos níveis de LH) e uma diminuição da contagem de espermatozoides. Se confirmadas, estas descobertas sugerem que os níveis ambientais de BPA podem afetar negativamente a função endócrina nos jovens. No entanto, não foram encontradas associações significativas entre o BPA e outros parâmetros de sémen ou níveis de hormonas reprodutivas, contrariamente aos estudos acima citados. A amostra envolveu 215 jovens universitários saudáveis (18-23 anos), no Sul de Espanha (29).

No mesmo ano, Omran et al., visou identificar qualquer tipo de associação entre os níveis de BPA urinário e fatores relacionados com a infertilidade em doentes do sexo masculino egípcios. A população do estudo era composta por 50 homens inférteis e 50 homens saudáveis como controlo. A qualidade do sémen (concentração, contagem, morfologia e motilidade do esperma) e o stress oxidativo foram determinados juntamente com os danos no ADN do esperma. As concentrações de BPA foram igualmente elevadas em amostras de urina de doentes inférteis e controlos férteis. Os níveis totais de BPA foram negativamente associados à qualidade do sémen e níveis de antioxidantes, e positivamente correlacionados com danos no ADN (51).

O objetivo do estudo transversal de Ji et al. foi examinar a associação das concentrações urinárias de BPA e parâmetros característicos do esperma, medidos pelo sistema CASA³. A amostra incluiu 500 homens férteis da China. Concluíram que a exposição ambiental ao BPA numa zona menos industrializada, onde o nível de BPA na urina é relativamente inferior, demonstra igualmente uma diminuição da concentração de espermatozoides, um aumento das taxas de velocidade (LIN, STR e WOB) e a redução das características de motilidade do esperma (ALH e MAD). Não existem dúvidas de que a qualidade do sémen é uma componente dominante no que determina a fertilidade masculina. Evidências atuais, de estudos *in vitro* e estudos humanos, mostram que a redução de VCL e ALH, e um aumento de LIN estão relacionados com a diminuição da fertilidade masculina. Assim, as reduções induzidas pelo BPA na concentração de espermatozoides e ALH e o aumento de LIN podem levar a uma deterioração da fertilidade masculina. As alterações na espermiogénese e o deficiente movimento do esperma podem explicar a

³ O sistema CASA é recomendado pela OMS devido à sua elevada precisão e capacidade de fornecer dados quantitativos sobre parâmetros cinemáticos dos espermatozoides (50).

subfertilidade masculina resultante da exposição ao BPA, embora o mecanismo biológico subjacente ainda seja desconhecido (52).

Radwan et al. mediu as concentrações urinárias de BPA em 315 homens polacos, com menos de 45 anos, recrutados de uma clínica de saúde reprodutiva, que apresentavam uma concentração normal de esperma, e avaliou a sua relação com a qualidade do sémen (usando os parâmetros CASA), danos no ADN e aneuploidias espermáticas. O estudo fornece provas de que a exposição ao BPA está associada a uma pior qualidade de sémen, uma vez que existe um aumento dos espermatozoides imaturos, uma diminuição da motilidade destes e uma dissomia nos cromossomas espermáticos (30).

Na investigação de Pollard et al. utilizaram uma amostra de 161 homens com idades compreendidas entre os 18 e os 40 anos e fertilidade desconhecida. Após avaliarem a qualidade do sémen em relação à concentração de BPA concluíram que uma maior exposição a esta substância estava associada a uma morfologia anormal da cauda do espermatozoide. Já em relação à contagem de espermatozoides não houve qualquer associação encontrada (53).

Mantzouki et al. tiveram como objetivo investigar as concentrações de BPA em 55 homens inférteis com diversas patologias, recrutados de uma unidade de endocrinologia reprodutiva na Grécia, em comparação com 25 homens férteis da população geral. Concentrações muito elevadas de BPA foram apenas observadas em homens inférteis, no entanto, não houve diferença nas concentrações de BPA entre os homens inférteis e os homens de controlo ou entre a causa da infertilidade. Concluíram portanto que embora a infertilidade masculina não possa ser atribuída à exposição ao BPA, concentrações elevadas de BPA poderão contribuir para esta causa (54).

Tian et al. tiveram como objetivo analisar se a exposição ao BPA estava associada à hidroximetilação do ADN em amostras de sémen humano. Usaram uma amostra de 158 trabalhadores de fábricas chinesas, dos quais 72 trabalhadores apresentavam exposição ao BPA e 86 não tinha exposição profissional. Os dados obtidos indicam que a exposição ocupacional ao BPA se associa a alterações da hidroximetilação do sémen humano, o que poderá ter implicações na possível compreensão dos mecanismos subjacentes aos efeitos adversos induzidos pelo BPA na função reprodutiva masculina (28).

Um estudo transversal realizado com 158 estudantes universitários saudáveis (18-23 anos), recrutados na Região de Múrcia (Espanha) avaliou as concentrações de BPA

urinário e o índice de fragmentação do ADN espermático⁴ (SDF). Não encontraram qualquer associação entre as concentrações de BPA urinário e o índice de SDF no grupo total. Contudo, no subgrupo de homens com índice SDF > 30%, foram observadas associações positivas. Os autores referem que os resultados obtidos, se confirmados, sugerem que os níveis ambientais de BPA podem ter um impacto negativo na função do esperma (55).

Palak et al. tiveram como objetivo avaliar a associação dos níveis de BPA com a concentração de hormonas esteroides e níveis de miRNAs⁵ circulantes. Os investigadores encontraram as seguintes associações: o nível de BPA no plasma seminal de homens azoospermicos era significativamente mais elevado em comparação com os controlos saudáveis; as concentrações de E2 e AD estavam significativamente reduzidas no plasma seminal de homens azoospermicos em comparação com os homens normospermicos; o nível de BPA tem uma correlação negativa com a concentração de esperma e morfologia normal do sémen; existe uma correlação positiva significativa entre os níveis de BPA e os níveis de miR-let-7a e miR-let-7c, e uma correlação negativa com os níveis de miR-518f. Concluíram portanto que o BPA pode afetar negativamente a qualidade do esperma e atuar diretamente no plasma seminal, afetando o ambiente testicular (56).

Um estudo com um desenho transversal incluindo 984 homens chineses de uma clínica de infertilidade avaliou o efeito tanto do BPA como dos seus substitutos sobre a qualidade do sémen. Observaram que exposições mais elevadas de BPA estavam associadas à deterioração da qualidade do sémen, ou seja, uma concentração e contagem total de esperma e motilidade progressiva e total abaixo da referência normal (57).

Contrariando os resultados supracitados surge o estudo de Chen et al., que investigou se a exposição aos fenóis estava ou não relacionada com a infertilidade masculina idiopática na população geral. Concluíram, tal como Mendiola et al. (40), que não existem provas da associação entre a exposição ao BPA e a infertilidade masculina (58).

Na mesma linha de resultados aparece também o estudo LIFE que visou estimar a associação entre o BPA e 35 parâmetros de qualidade do sémen entre homens em idade reprodutiva do Michigan e do Texas. Os 418 homens recrutados da população geral foram escolhidos no sentido de evitar o contexto clínico e/ou profissional como se

⁴ O índice SDF é definido como a percentagem de esperma com ADN fragmentado dividido pela quantidade total de esperma avaliado (52).

⁵ Os miRNAs são moléculas de RNA não codificantes, de cadeia única, importantes na regulação da expressão genética pós-transcricional. Podem ser encontrados em vários tecidos e fluidos, incluindo o testículo, esperma e plasma seminal, e podem regular a espermatogénese, a maturação e a capacitação do esperma. A síntese e expressão do miRNA pode ser regulada por sinalização hormonal (51).

verificou em muitos estudos já realizados e acima citados. Esta análise exploratória não encontrou provas que corroborassem uma relação adversa entre a qualidade total de BPA urinário e a qualidade do sémen (59).

Curiosamente surge um estudo de Hu et al. que avaliou a interação entre a exposição ao BPA e a obesidade na qualidade do sémen, fator este que aumenta a toxicidade do BPA na espermatogénese. A amostra consistiu em 357 homens subférteis recrutados de hospitais da cidade de Nanjing, na China. Contudo, este estudo não mostrou qualquer relação entre os níveis de BPA e os parâmetros espermáticos, incluindo a concentração de esperma, contagem total, motilidade ou volume de sémen (60).

Numa outra investigação onde foram recrutados 146 casais submetidos a fertilização *in vitro* concluíram que as concentrações de BPA não afetam significativamente os parâmetros concentração e motilidade do esperma (61).

Bastante recente, uma investigação deste ano, em que o objetivo foi investigar as possíveis diferenças na exposição aos ftalatos e ao BPA entre duas populações masculinas com diferentes graus de fertilidade, concluíram que não havia diferenças entre os níveis urinários de BPA em ambos os grupos. A população utilizada consistiu em 155 homens com alterações na fertilidade e 211 controlos, recrutados em Milão, Itália (35).

Na Tabela 1. é possível encontrar todos os estudos epidemiológicos acima citados e respetivas conclusões gerais.

Tabela 1. Estudos epidemiológicos e respetivas conclusões gerais.

Autor e ano	Estudo	Amostra	Parâmetros Avaliados	Conclusões gerais
<i>Meeker et al. 2010</i> (39)	Transversal	190 homens - clínica de fertilidade	Características do sémen	Diminuição concentração e motilidade esperma Alterações morfologia Aumento danos ADN esperma
<i>Mendiola et al. 2010</i> (40)	Transversal	375 homens férteis - clínica pré-natal	Características do sémen Hormonas reprodutivas	Diminuição modesta TL Sem associação com características do sémen ou hormonas reprodutivas
<i>Li et al. 2010</i> (38)	Transversal	218 homens com e sem exposição ocupacional	Características do sémen	Diminuição concentração, contagem total, vitalidade e motilidade esperma Sem associação com alterações morfologia
<i>Chen et al. 2013</i> (58)	Caso-controlo	877 homens inférteis idiopáticos 713 controlos férteis	Características do sémen	Não existem provas da associação entre a exposição ao BPA e a infertilidade masculina
<i>Zhou et al. 2013</i> (27)	Transversal	290 homens com e sem exposição ocupacional	Hormonas reprodutivas	Diminuição AD, TL e FAI Aumento SHGB
<i>Knez et al. 2014</i> (47)	Transversal	149 homens de casais em tratamento IVF ou ICSI	Características do sémen	Diminuição da contagem de espermatozoides, concentração e vitalidade do esperma
<i>Lassen et al. 2014</i> (25)	Transversal	308 jovens da população geral	Características do sémen Hormonas reprodutivas	Aumento T, LH, E2 e TL Diminuição da motilidade esperma Não existem provas de outros parâmetros sémen
<i>Miao et al. 2014</i> (48)	Coorte Prospetivo	149 homens com e sem exposição ocupacional	Características do sémen Metilação do sémen	Diminuição concentração e metilação do esperma
<i>Vitku et al. 2015</i> (24)	Transversal	174 homens - vários graus infertilidade	Características do sémen	Diminuição contagem e concentração do esperma
<i>Den Hond et al. 2015</i> (49)	Caso-controlo	163 homens – 4 clínicas fertilidade	Hormonas reprodutivas	Diminuição da T, maior risco de subfertilidade

<i>Zhuang et al. 2015</i> (43)	Coorte Prospetivo	281 homens com exposição ocupacional 278 controlos	Hormonas reprodutivas	Exposição >5 anos - aumento SHBG e diminuição AD Sem alterações entre grupos - SHBG, TT, inibina B ou AD
<i>Liu et al. 2015</i> (44)	Transversal	592 homens com e sem exposição ocupacional	Hormonas reprodutivas	Aumento prolactina, E2 e SHGB Diminuição FSH, AD e FAI
<i>La Rocca et al. 2015</i> (50)	Transversal	70 homens inférteis 83 controlos férteis	Expressão génica recetores nucleares	Aumento expressão génica ER α , ER β , AR, PXR e AhR
<i>Goldstone et al. 2015</i> (59)	Coorte Prospetivo	418 homens de casais em tentativa de engravidar	Características do sémen	Não existem provas da associação entre a exposição ao BPA e a qualidade do sémen
<i>Vitku et al. 2016</i> (42)	Transversal	191 homens – vários graus infertilidade	Características do sémen	Diminuição concentração, contagem total, vitalidade e morfologia esperma. Alterações esteroidogénese gonadal e suprarrenal
<i>Liang et al. 2017</i> (45)	Transversal	560 homens	Hormonas reprodutivas	Aumento LH e FSH em fumadores Diminuição T total em IMC >25 kg/m ²
<i>Hu et al. 2017</i> (60)	Transversal	357 homens subférteis	Características do sémen	Não existem provas da associação entre a exposição ao BPA e a infertilidade masculina
<i>Ji et al. 2018</i> (52)	Transversal	500 homens férteis	Características do sémen	Diminuição concentração e motilidade esperma Aumento taxas de velocidade esperma
<i>Joensen et al. 2018</i> (46)	Coorte Prospetivo	65 jovens com mutação 130 controlos	Características do sémen Hormonas reprodutivas	Portadores da mutação FLG – aumento T e E2, diminuição FSH. Diminuição motilidade espermática
<i>Adoamnei et al. 2018</i> (29)	Transversal	215 universitários saudáveis	Características do sémen Hormonas reprodutivas	Aumento LH Diminuição da concentração esperma Não existem provas de outros parâmetros de sémen ou outras hormonas reprodutivas

<i>Omran et al. 2018</i> (51)	Caso-controlo	50 homens inférteis 50 controlos férteis	Características do sémen	Diminuição da qualidade do sémen
<i>Tian et al. 2018</i> (28)	Coorte Prospetivo	158 homens com e sem exposição ocupacional	Metilação do sémen	Alterações da hidroximetilação do sémen
<i>Radwan et al. 2018</i> (30)	Coorte Prospetivo	315 homens – clínica saúde reprodutiva	Características do sémen	Diminuição motilidade esperma Aumento dos espermatozoides imaturos Dissomia nos cromossomas espermáticos
<i>Pollard et al. 2019</i> (53)	Coorte Prospetivo	161 homens	Características do sémen	Alterações da morfologia (cauda espermatozoide) Não existem provas de outros parâmetros sémen
<i>Mantzouki et al. 2019</i> (54)	Transversal Caso-controlo	55 homens inférteis 25 homens férteis	Concentração de BPA	Concentrações muito altas apenas em inférteis, mas sem diferenças na concentração entre os 2 grupos
<i>Cárdenas et al. 2021</i> (55)	Transversal	158 estudantes universitários	Fragmentação ADN espermático	Aumento índice SDF no subgrupo SDF>30%
<i>Palak et al. 2021</i> (56)	Caso-controlo	116 homens	Características do sémen Hormonas reprodutivas Níveis de miRNAs	Diminuição concentração e morfologia esperma Diminuição E2, AD Aumento miR-let-7a e miR-let-7c, diminuição miR-518f
<i>Kim et al. 2021</i> (61)	Coorte Prospetivo	146 homens de casais submetidos a IVF	Características do sémen	Não existem provas da associação entre o BPA e motilidade e concentração do esperma
<i>Chen et al. 2022</i> (57)	Transversal	984 homens – clínica saúde reprodutiva	Características do sémen	Diminuição concentração e contagem total de esperma e motilidade progressiva e total
<i>Caporossi et al. 2023</i> (35)	Caso-controlo	155 homens - vários graus de infertilidade 211 controlos férteis	Características do sémen	Não existem provas da associação entre a exposição ao BPA e a qualidade do sémen

5. Conclusão

Com a industrialização da sociedade moderna, e a necessidade de soluções mais convenientes e práticas para acompanhar o estilo de vida agitado das famílias atuais, o plástico assumiu o lugar de material preferido para recipientes de alimentos e água. A exposição humana ao BPA assume atualmente grande preocupação devido à forma como este produto químico se tornou tão difundido no meio ambiente e também pelo facto de ser detetado em fluidos biológicos humanos. Tendo em conta as numerosas fontes e o potencial de disrupção endócrina deste químico, parece ser aconselhável introduzir uma biomonitorização a nível mundial de forma a avaliar detalhadamente o risco para a saúde humana. Esta monitorização pode tornar-se uma valiosa ferramenta na procura de relações entre a exposição ao BPA e a prevalência de determinadas perturbações hormonais.

Os efeitos nocivos na fertilidade masculina foram claramente ilustrados em estudos baseados em animais, no entanto os estudos em humanos ficam ainda por corroborar. Nos estudos hormonais, os “endpoints” medidos foram tipicamente: testosterona, estradiol, hormona estimuladora de folículos, hormona luteinizante, globulina de ligação à hormona sexual e/ou androstenediona. Apesar de muito dispares, em cerca de metade dos estudos analisados verificou-se que uma elevada exposição ao BPA está associada a níveis mais baixos de testosterona, mas níveis aumentados/diminuídos de outras hormonas (por exemplo, E2, LH, FSH, SHBG, AD) podendo assim contribuir para a infertilidade masculina. Os estudos em humanos sugerem que a exposição a esta substância está associada a alterações dos níveis hormonais e à diminuição da qualidade (motilidade, concentração, contagem e vitalidade) e aumento das lesões no ADN e alterações na morfologia do esperma, principalmente quando existe elevada exposição laboral.

No entanto, as investigações disponíveis até ao momento não são suficientes para tirar uma conclusão definitiva sobre a exposição ao BPA e os seus efeitos na infertilidade masculina humana. Esta falta de consenso e resultados contraditórios verifica-se devido aos estudos existentes serem limitados, com desenhos maioritariamente transversais, pequena dimensão da amostra, variedade nos grupos de homens (predisposição genética, condições ambientais) e outras fraquezas metodológicas. São então necessários mais estudos para se estabelecerem com maior precisão os seus efeitos adversos e averiguar se os achados encontrados nos estudos *in vitro* e com modelos animais se verificam com a mesma veracidade no homem. Ou seja, torna-se necessária e de extrema

importância a realização de estudos mais homogêneos, permitindo a obtenção de dados mais consistentes e fiáveis. As atuais conclusões ambíguas poderiam ser resolvidas caso houvesse a determinação exata do mecanismo de ação molecular do BPA, o qual continua por desvendar. Seria também interessante tentar conceber estratégias terapêuticas eficientes para inverter os impactos negativos do BPA na reprodução, para isso recomenda-se o estudo de todos os alvos possíveis (proteínas) e os seus impactos.

Ainda assim, deve enfatizar-se a importância de reduzir os níveis de BPA no meio ambiente, a fim de salvaguardar a fertilidade masculina. Os trabalhadores expostos ao BPA devem reforçar a sua proteção individual (por exemplo, uso de máscara, bata, etc.) e prestar atenção à higiene pessoal (por exemplo, não comer no local de trabalho, tomar banho depois de sair do trabalho, etc.), para evitar ao máximo a exposição elevada no organismo. Devem ser tomadas medidas pelos governos mundiais (estabelecer limites de concentração, eliminar a utilização de certas substâncias, controlo apertado de agentes já identificados como causadores de danos reprodutivos) de forma a garantir o princípio da precaução.

Tendo em conta a produção em larga escala de BPA, a sua presença constante no nosso quotidiano e a presumível diminuição da fertilidade masculina, devem ser tomadas medidas que visem a sua substituição por componentes inócuos, bem como a restrição da sua utilização.

Nesta revisão apenas é abordado o BPA, no entanto, existem muitos outros disruptores endócrinos que são omnipresentes no ambiente e coexistem no nosso organismo, podendo estes ter efeitos potencialmente sinérgicos na qualidade do sémen e hormonas reprodutivas. A utilização generalizada de bisfenóis é certamente perigosa para a função testicular e é necessária uma redução da sua utilização para preservar a saúde sexual e reprodutiva masculina.

6. Referências Bibliográficas

1. Monneret C. What is an endocrine disruptor? *Comptes Rendus - Biol* [Internet]. 2017;340(9–10):403–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crvi.2017.07.004>
2. Kabir ER, Rahman MS, Rahman I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2015;40(1):241–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.06.009>
3. Mozo DR. Endocrine disruptors Solutions to new challenges. *Inst Sind Trab Ambient y Salud*. 2012;(October):1–60.
4. Abraham A, Chakraborty P. A review on sources and health impacts of bisphenol A. *Rev Environ Health*. 2019;(8):1–10.
5. Rubin BS. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 2011;127(1–2):27–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.05.002>
6. Vandenberg LN, Maffini M V., Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Bisphenol-a and the great divide: A review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev*. 2009;30(1):75–95.
7. Ma Y, Liu H, Wu J, Yuan L, Wang Y, Du X, et al. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environ Res*. 2019;176:108575.
8. Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology*. 2006;226(2–3):79–89.
9. Michałowicz J. Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2014;37(2):738–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.003>
10. Konieczna A, Rutkowska A, Rachoń D. Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA). *Rocz Panstw Zakl Hig* [Internet]. 2015;66(1):5–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25813067>

11. Eladak S, Grisin T, Moison D, Guerquin MJ, N'Tumba-Byn T, Pozzi-Gaudin S, et al. A new chapter in the bisphenol A story: Bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertil Steril*. 2015;103(1):11–21.
12. Altuwair I. Production of Bisphenol A (BPA) By Green Technology. *Eng Technol Open Access J*. 2018;1(3):555563.
13. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons W V. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol*. 2007;24(2):139–77.
14. Manzoor MF, Tariq T, Fatima B, Sahar A, Tariq F, Munir S, et al. An insight into bisphenol A, food exposure and its adverse effects on health: A review. *Front Nutr*. 2022;9(November):1–16.
15. Barbagallo F, Condorelli RA, Mongioì LM, Cannarella R, Aversa A, Calogero AE, et al. Effects of Bisphenols on Testicular Steroidogenesis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11(June):1–8.
16. EFSA CEF Panel (EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes F and PA. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA J* [Internet]. 2015 Jan;13(1):3978. Available from: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2015.3978>
17. Vom Saal FS, Vandenberg LN. Update on the Health Effects of Bisphenol A: Overwhelming Evidence of Harm. *Endocrinol (United States)*. 2021;162(3):1–25.
18. Cannarella R, Gül M, Rambhatla A, Agarwal A. Temporal decline of sperm concentration: role of endocrine disruptors. *Endocrine*. 2023;79(1):1–16.
19. Flint S, Markle T, Thompson S, Wallace E. Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. *J Environ Manage* [Internet]. 2012;104:19–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.03.021>
20. Dekant W, Völkel W. Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008;228(1):114–34.
21. Santiago J, Silva J V., Santos MAS, Fardilha M. Fighting bisphenol A-induced male infertility: The power of antioxidants. *Antioxidants*. 2021;10(2):1–22.

22. Acconcia F, Pallottini V, Marino M. Molecular mechanisms of action of BPA. *Dose-Response*. 2015;13(4):1–9.
23. Rochester JR. Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2013;42:132–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
24. Vitku J, Sosvorova L, Chlupacova T, Hampl R, Hill M, Sobotka V, et al. Differences in bisphenol A and estrogen levels in the plasma and seminal plasma of men with different degrees of infertility. *Physiol Res* [Internet]. 2015;64(Suppl 2):S303–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26680493>
25. Lassen TH, Frederiksen H, Jensen TK, Petersen JH, Joensen UN, Main KM, et al. Urinary bisphenol A levels in young men: Association with reproductive hormones and semen quality. *Environ Health Perspect*. 2014;122(5):478–84.
26. Manfo FPT, Jubendradass R, Nantia EA, Moundipa PF, Mathur PP. Adverse effects of bisphenol A on male reproductive function. Whitacre DM, editor. *Rev Environ Contam Toxicol* [Internet]. 2014;228:57–82. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-01619-1>
27. Zhou Q, Miao M, Ran M, Ding L, Bai L, Wu T, et al. Serum bisphenol-A concentration and sex hormone levels in men. *Fertil Steril* [Internet]. 2013;100(2):478–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.04.017>
28. Tian Y, Zhou X, Miao M, Li DK, Wang Z, Li R, et al. Association of bisphenol A exposure with LINE-1 hydroxymethylation in human semen. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(8):1–10.
29. Adoamnei E, Mendiola J, Vela-Soria F, Fernández MF, Olea N, Jørgensen N, et al. Urinary bisphenol A concentrations are associated with reproductive parameters in young men. *Environ Res* [Internet]. 2018;161(July 2017):122–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.002>
30. Radwan M, Wielgomas B, Dziewirska E, Radwan P, Kałużny P, Klimowska A, et al. Urinary Bisphenol A Levels and Male Fertility. *Am J Mens Health*. 2018;12(6):2144–51.

31. Amir S, Shah STA, Mamoulakis C, Docea AO, Kalantzi OI, Zachariou A, et al. Endocrine disruptors acting on estrogen and androgen pathways cause reproductive disorders through multiple mechanisms: A review. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(4):1–20.
32. Kotwicka M, Skibinska I, Piworun N, Jendraszak M, Chmielewska M, Jedrzejczak P. Bisphenol A modifies human spermatozoa motility in vitro. *J Med Sci*. 2016;85(1):39–45.
33. Lagos-Cabré R, Moreno RD. Contribution of environmental pollutants to male infertility: A working model of germ cell apoptosis induced by plasticizers. *Biol Res*. 2012;45(1):5–14.
34. Concepción-Zavaleta M, Paz Ibarra JL, Ramos-Yataco A, Coronado-Arroyo J, Concepción-Urteaga L, Roseboom PJ, et al. Assessment of hormonal status in male infertility. An update. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2022;16(3):102447.
35. Caporossi L, Viganò P, Paci E, Capanna S, Alteri A, Pigni D, et al. A Case–Control Study on the Effects of Plasticizers Exposure on Male Fertility. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(1):235.
36. Peretz J, Vrooman L, Ricke WA, Hunt PA, Ehrlich S, Hauser R, et al. Bisphenol A and reproductive health: Update of experimental and human evidence, 2007-2013. *Environ Health Perspect*. 2014;122(8):775–86.
37. Xiao X, Mruk DD, Tang EI, Wong CKC, Lee WM, John CM, et al. Environmental toxicants perturb human Sertoli cell adhesive function via changes in F-actin organization mediated by actin regulatory proteins. *Hum Reprod*. 2014;29(6):1279–91.
38. Li DK, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, et al. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertil Steril [Internet]*. 2011;95(2):625-630.e4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.026>
39. Meeker JD, Ehrlich S, Toth TL, Wright DL, Calafat AM, Trisini AT, et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. *Reprod Toxicol [Internet]*. 2010 Dec 7;30(4):532–9. Available from: <http://arxiv.org/abs/1011.1669>

40. Mendiola J, Jørgensen N, Andersson AM, Calafat AM, Ye X, Redmon JB, et al. Are environmental levels of bisphenol A associated with reproductive function in fertile men? *Environ Health Perspect*. 2010;118(9):1286–91.
41. Barbonetti A, Castellini C, Di Giammarco N, Santilli G, Francavilla S, Francavilla F. In vitro exposure of human spermatozoa to bisphenol A induces pro-oxidative/apoptotic mitochondrial dysfunction. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2016;66:61–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.09.014>
42. Vitku J, Heracek J, Sosvorova L, Hampl R, Chlupacova T, Hill M, et al. Associations of bisphenol A and polychlorinated biphenyls with spermatogenesis and steroidogenesis in two biological fluids from men attending an infertility clinic. *Environ Int* [Internet]. 2016;89–90:166–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2016.01.021>
43. Zhuang W, Wu K, Wang Y, Zhu H, Deng Z, Peng L, et al. Association of Serum Bisphenol-A Concentration and Male Reproductive Function among Exposed Workers. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2015;68(1):38–45.
44. Liu X, Miao M, Zhou Z, Gao E, Chen J, Wang J, et al. Exposure to bisphenol-A and reproductive hormones among male adults. *Environ Toxicol Pharmacol* [Internet]. 2015;39(2):934–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2015.03.007>
45. Liang H, Xu W, Chen J, Shi H, Zhu J, Liu X, et al. The association between exposure to environmental bisphenol A and gonadotropic hormone levels among men. *PLoS One*. 2017;12(1):1–12.
46. Joensen UN, Jørgensen N, Thyssen JP, Szecsi PB, Stender S, Petersen JH, et al. Urinary excretion of phenols, parabens and benzophenones in young men: Associations to reproductive hormones and semen quality are modified by mutations in the Filaggrin gene. *Environ Int* [Internet]. 2018;121(September):365–74. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.09.020>
47. Knez J, Kranvogel R, Breznik BP, Vončina E, Vlaisavljević V. Are urinary bisphenol A levels in men related to semen quality and embryo development after medically assisted reproduction? *Fertil Steril*. 2014;101(1):215-221.e5.
48. Miao M, Zhou X, Li Y, Zhang O, Zhou Z, Li T, et al. LINE-1 hypomethylation in spermatozoa is associated with Bisphenol A exposure. *Andrology*. 2014;2(1):138–44.

49. Den Hond E, Tournaye H, De Sutter P, Ombelet W, Baeyens W, Covaci A, et al. Human exposure to endocrine disrupting chemicals and fertility: A case-control study in male subfertility patients. *Environ Int* [Internet]. 2015;84:154–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2015.07.017>
50. La Rocca C, Tait S, Guerranti C, Busani L, Ciardo F, Bergamasco B, et al. Exposure to endocrine disruptors and nuclear receptors gene expression in infertile and fertile men from Italian areas with different environmental features. *Int J Environ Res Public Health*. 2015;12(10):12426–45.
51. Omran GA, Gaber HD, Mostafa NAM, Abdel-Gaber RM, Salah EA. Potential hazards of bisphenol A exposure to semen quality and sperm DNA integrity among infertile men. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2018;81(August):188–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.08.010>
52. Ji H, Miao M, Liang H, Shi H, Ruan D, Li Y, et al. Exposure of environmental Bisphenol A in relation to routine sperm parameters and sperm movement characteristics among fertile men. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–9.
53. Pollard SH, Cox KJ, Blackburn BE, Wilkins DG, Carrell DT, Stanford JB, et al. Male exposure to bisphenol A (BPA) and semen quality in the Home Observation of Periconceptual Exposures (HOPE) cohort. *Reprod Toxicol*. 2019;90:82–7.
54. Mantzouki C, Bliatka D, Iliadou PK, Margeli A, Papassotiriou I, Mastorakos G, et al. Serum Bisphenol A concentrations in men with idiopathic infertility. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2019;125(December 2018):562–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.02.016>
55. Kiwitt-Cárdenas J, Adoamnei E, Arense-Gonzalo JJ, Sarabia-Cos L, Vela-Soria F, Fernández MF, et al. Associations between urinary concentrations of bisphenol A and sperm DNA fragmentation in young men. *Environ Res*. 2021;199:111289.
56. Palak E, Lebedzińska W, Anisimowicz S, Sztachelska M, Pierzyński P, Wiczowski W, et al. The association between bisphenol a, steroid hormones, and selected micrnas levels in seminal plasma of men with infertility. *J Clin Med*. 2021;10(24):1–11.
57. Chen PP, Liu C, Zhang M, Miao Y, Cui FP, Deng YL, et al. Associations between urinary bisphenol A and its analogues and semen quality: A cross-sectional study among

Chinese men from an infertility clinic. *Environ Int* [Internet]. 2022;161:107132. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107132>

58. Chen M, Tang R, Fu G, Xu B, Zhu P, Qiao S, et al. Association of exposure to phenols and idiopathic male infertility. *J Hazard Mater*. 2013;250–251:115–21.

59. Goldstone AE, Chen Z, Perry MJ, Kannan K, Louis GMB. Urinary bisphenol A and semen quality, the LIFE study. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2015;51:7–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.11.003>

60. Hu W, Dong T, Wang L, Guan Q, Song L, Chen D, et al. Obesity aggravates toxic effect of BPA on spermatogenesis. *Environ Int*. 2017;105(April):56–65.

61. Kim HK, Ko DH, Lee W, Kim KR, Chun S, Song J, et al. Body fluid concentrations of bisphenol A and their association with in vitro fertilization outcomes. *Hum Fertil* [Internet]. 2021;24(3):199–207. Available from: <https://doi.org/10.1080/14647273.2019.1612104>