



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**CITOTOXICIDADE DO BISFENOL-A: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Trabalho submetido por
Maria Beatriz Vilela Pereira Cardoso
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2020



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**CITOTOXICIDADE DO BISFENOL-A: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE**

Trabalho submetido por
Maria Beatriz Vilela Pereira Cardoso
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Mário Polido

outubro de 2020

À Estrela.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, ao meu orientador Prof. Doutor Mário Polido, a quem eu agradeço a sua disponibilidade e o apoio desde o primeiro momento, a partilha de conhecimento ao longo do meu percurso académico e a simpatia que sempre demonstrou.

Ao Mestre Paulo Mascarenhas, pela ajuda e disponibilidade ilimitada que demonstrou na realização deste trabalho e por me ter sempre incentivado e encaminhado na direção correta.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, aos Professores e funcionários pertencentes ao mesmo, por providenciarem aos alunos todas as condições para um ensino de excelência.

Ao meu colega e amigo Tiago Cascão, por me acompanhar desde o início do meu percurso académico e por me ter encorajado a embarcar nesta aventura com ele, pelos momentos de diversão e por toda a ajuda que me prestou ao longo destes dois cursos.

À minha colega de box Catarina Mendonça, por ser uma excelente amiga desde o início, pelos momentos divertidos dentro e fora da faculdade, pela entreaajuda e apoio nas aulas e na clínica, e por me ajudar a crescer enquanto pessoa.

À minha família, em particular aos meus pais, Maria Paula e José Carlos, por todo o apoio, encorajamento e afecto. Os seus conselhos e orientação ajudaram-me imenso a crescer enquanto pessoa e a preparar-me para os desafios que estão por vir.

Ao meu namorado Nuno Pereira, por ser o meu pilar, pelo apoio e amor incondicional ao longo destes três anos, por me fazer rir e por todos os momentos felizes, por me motivar e incentivar a esforçar-me de modo a alcançar todos os meus objectivos e por me estimular a ser uma pessoa mais madura.

Resumo

Objectivo: O objectivo desta revisão sistemática e meta-análise é avaliar, de forma qualitativa e quantitativa, os resultados dos vários estudos realizados em modelo murino, que analisam os efeitos citotóxicos do composto Bisfenol-A (BPA) e as suas possíveis implicações no sistema reprodutivo e fertilidade.

Métodos: A pesquisa sistemática foi realizada a partir de duas bases de dados universais electrónicas, *PubMed/Medline* e *Google Scholar*. Os resultados dos artigos seleccionados nesta revisão foram convertidos em magnitudes de dose-efeito através do software *dosresmeta*, a correr em *Rstudio* e posteriormente exibidos na forma de gráficos de regressão dose-efeito. As magnitudes de dose-efeito foram posteriormente agrupadas de acordo com o tipo de tratamento, para o ajuste de uma meta-análise de sub-grupos com efeitos randomizados através do software *OpenMeta[Analyst]*.

Resultados: Relativamente à administração intragástrica de BPA em diferentes formas (tratamento), foi observada uma diminuição substancial do número de fêmeas grávidas e do número de fetos viáveis, tanto nos ensaios com fêmeas tratadas, como nos ensaios com machos tratados. Por outro lado, a administração oral de BPA e Bis-GMA às fêmeas não teve efeito significativo no seu risco relativo de infertilidade.

Conclusão: O BPA, nas suas diversas formas, parece ter um efeito negativo na fertilidade murina quando absorvido directamente no estômago. No entanto é necessário ter em conta que as dosagens administradas aos ratos, nos estudos incluídos nesta revisão, podem ser consideradas relativamente elevadas quando comparadas com as quantidades libertadas dos materiais dentários em boca. Assim, não é claro se o BPA afecta a fertilidade humana, no entanto, tendo em conta a literatura, é pertinente o desenvolvimento de materiais dentários com substitutos para este composto, de modo a este ser retirado das suas formulações.

Palavras-chave: Bisfenol-A, fertilidade, Bis-GMA, ratos

Abstract

Objective: The objective of this systematic review and meta-analysis is to evaluate, in a qualitative and quantitative way, the results of the various studies carried out in a murine model, which analyze the cytotoxic effects of the compound Bisphenol-A and its possible implications in the reproductive system and fertility.

Methods: The systematic search was carried out from two universal databases, PubMed/Medline and Google Scholar. The results of the articles selected in this review were converted into dose-effect magnitudes using the dossmeta software, running in Rstudio and subsequently displayed in the form of dose-effect regression graphs. The dose-effect magnitudes were later grouped according to the type of treatment, for the adjustment of a meta-analysis of subgroups with randomized effects using the OpenMeta [Analyst] software.

Results: Regarding the intragastric administration of Bisphenol-A in different forms, a substantial decrease in the number of pregnant females and the number of viable fetuses was observed, both in the tests with treated females and in the tests with treated males. On the other hand, oral administration of Bisphenol-A and Bis-GMA to females had no significant effect on their relative risk of infertility.

Conclusion: BPA, in its various forms, appears to have a negative effect on murine fertility when absorbed directly into the stomach. However it is necessary to bear in mind that the dosages administered to rats, in the studies included in the review, can be considered relatively high when compared to the amounts released from dental materials in the oral cavity. Thus, it is not conclusive whether BPA affects human fertility, however, taking into account the literature, it is pertinent to manufacture dental materials with substitutes for this compound, so that it can be removed from its formulation.

Keywords: Bisphenol-A, fertility, Bis-GMA, mice

Índice

I.	Introdução	15
1.	Impacto do BPA no desenvolvimento	16
2.	Impacto do BPA no metabolismo.....	18
3.	Impacto do BPA no sistema reprodutivo feminino	19
4.	Impacto do BPA no sistema reprodutivo masculino	20
5.	Problema e objectivo	20
II.	Materiais e Métodos	23
1.	Definição do PICO	23
2.	Pesquisa sistemática	23
3.	CrITÉrios de inclusão e exclusão	24
4.	Seleção e avaliação da qualidade dos estudos	24
5.	Risco de viés	25
6.	Análise estatística	25
III.	Resultados.....	27
1.	Análise descritiva	29
2.	Risco de viés	34
3.	Meta-análise.....	35
IV.	Discussão	49
V.	Conclusão	53
VI.	Bibliografia.....	55

Índice de Figuras

Figura 1. Estrutura química do Bisfenol A-Glicidil Metacrilato (Bis-GMA).....	15
Figura 2. Estrutura química do Bisfenol A (BPA).	16
Figura 3. Gráfico do risco de enviesamento de cada pergunta aplicada aos estudos	34
Figura 4. Gráfico do risco de enviesamento, no qual está representada a resposta a cada questão para todos os estudos incluídos	34
Figura 5. Fluxograma da pesquisa de acordo com o PRISMA.	28
Figura 6. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.	36
Figura 7. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.	36
Figura 8. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.	37
Figura 9. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.	37
Figura 10. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA	

intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	38
Figura 11. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	38
Figura 12. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	39
Figura 13. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	39
Figura 14. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	40
Figura 15. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	40
Figura 16. Comparação da magnitude dose-efeito, no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, das várias substâncias administradas e da forma de administração.	41
Figura 17. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	42
Figura 18. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de <i>Akaike</i> .	42

Figura 19. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.	43
Figura 20. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.	43
Figura 21. Comparação da magnitude dose-efeito, no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, das várias substâncias administradas.	44
Figura 22. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$	45
Figura 23. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$	45
Figura 24. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$	46
Figura 25. Comparação da magnitude dose-efeito, na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, das várias substâncias administradas.	46
Figura 26. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos das fêmeas acasaladas com machos tratados com Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$	47
Figura 27. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos das fêmeas acasaladas com machos tratados com Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$	47
Figura 28. Comparação da magnitude dose-efeito, na viabilidade dos fetos das fêmeas acasalados com machos tratados, das várias substâncias administradas.	48

Índice de Tabelas

Tabela 1. Pesquisa sistemática das diversas palavras-chave e combinações das mesmas nas bases de dados universais <i>PubMed/Medline</i> e <i>Google Scholar</i>	27
Tabela 2. Tabela de evidência dos artigos incorporados na revisão sistemática referente à população feminina.	30
Tabela 3. Tabela de evidência dos artigos incorporados na revisão sistemática referente à população masculina.	32

Lista de Siglas

Bis-GMA: Bisfenol A-Glicidil Metacrilato

BPA: Bisfenol-A

AGD: Distância anogenital curta

NHANES: *National Health and Nutrition Examination Survey*

IMC: Índice de massa corporal

ER α / ER β : Receptores nucleares do estrogénio

SERM: Modulador selectivo do receptor do estrogénio

E2: Estradiol

SOPC: Síndrome do ovário poliquístico

AR: Receptor androgénico

Bis-DMA: Bisfenol A dimetacrilato

TEG-DMA: Tri(etileno-glicol) dimetacrilato

OHAT: *Oral health assessment tool*

SYRCLE: *Systematic review center for laboratory animal experimentation*

AIC: Critério de informação de Akaike

I. Introdução

A cárie dentária tem vindo a ser considerada ao longo da História, como uma das doenças crónicas mais comuns em todo o Mundo, e ao estar estabelecida, necessita de tratamento de modo a prevenir o seu progresso. (Kloukos et al., 2013; Leprince et al., 2013)

As resinas compostas são desenhadas com o intuito de substituir os tecidos biológicos, tanto em função como em aparência, sendo uma das opções mais usadas para o tratamento da cárie dentária. (Leprince et al., 2013)

O desenvolvimento das resinas compostas contemporâneas foi possível devido à síntese do Bisfenol A-Glicidil Metacrilato, ou Bis-GMA, realizada por Bowen em 1962. Este componente fornece propriedades essenciais, nomeadamente maior resistência, rápida polimerização e baixa contração. A estrutura química deste composto pode ser observada na Figura 1. (Peutzfeldt, 1997)

O potencial de lixiviação de resíduos monoméricos de Bis-GMA a partir de resinas compostas aplicadas na restauração de dentes tem vindo a ser investigada e documentada em vários estudos. Estes monómeros têm a possibilidade de ser lixiviados para os fluidos salivares, entrando em contacto com a mucosa oral e o trato gastrointestinal, ou para a dentina, difundindo-se também para a polpa do dente. Este fenómeno pode ocorrer por polimerização incompleta do material restaurador ou, ao longo do tempo, por biodegradação causada por bactérias, alterações térmicas ou enzimas presentes na saliva. (Hume & Gerzina, 1996; Kang et al., 2011; Van Landuyt et al., 2011)

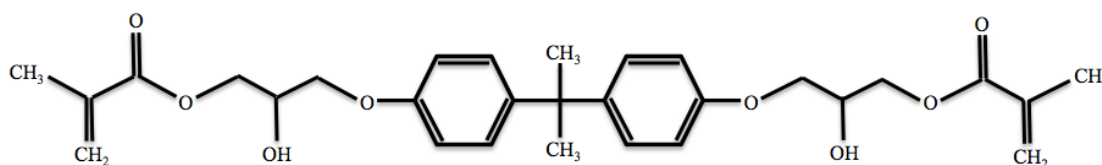


Figura 1. Estrutura química do Bisfenol A-Glicidil Metacrilato (Bis-GMA).

O principal monómero que é libertado através deste fenómeno é o Bisfenol-A (BPA). Este composto é descrito na literatura como apresentando efeitos citotóxicos, agindo como um desregulador do sistema endócrino. (Fleisch et al., 2010; Söderholm & Mariotti, 1999)

O BPA é um composto sintético orgânico que pertence ao grupo dos derivados de difenilmetano. Para além da sua presença nos materiais dentários, é utilizado na fabricação de plásticos de policarbonato e resinas, como por exemplo embalagens de alimentos, materiais industriais e produtos de higiene. A estrutura química deste composto pode ser observada na Figura 2. (Huo et al., 2015; Jalal et al., 2018):

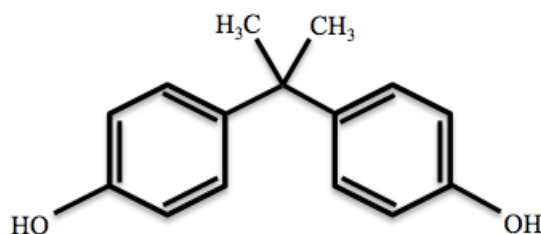


Figura 2. Estrutura química do Bisfenol A (BPA).

Toda a população está exposta em certa medida ao BPA através da pele, por inalação e pelo sistema digestivo. O BPA uma vez absorvido pelo organismo humano é metabolizado pelo fígado, com uma semi-vida de 6 horas, e excretado através da urina num período de 24 horas. Apesar do rápido metabolismo, este composto pode-se acumular em diferentes tecidos. (Komarowska et al., 2015; Matuszczak et al., 2019; Vandenberg et al., 2010)

Muitos investigadores provaram o impacto do composto de BPA na saúde, nomeadamente no desenvolvimento humano, no metabolismo e no sistema reprodutivo. (Rochester, 2013)

1. Impacto do BPA no desenvolvimento

Um dos factores adversos do BPA estudados foi o peso à nascença. No estudo realizado por Miao et al. em 2011, foi encontrada uma correlação entre a exposição maternal ao

BPA e o peso à nascença do recém-nascido. Verificou-se que as crianças cujas mães tinham sido expostas ao composto tinham significativamente um menor peso à nascença. No entanto, existem vários estudos a este respeito que apresentam resultados divergentes. Assim, a evidência que indica que o BPA tem algum efeito sobre o peso à nascença não é conclusiva, sendo necessário mais estudos sobre assunto. (Miao et al., 2011; Rochester, 2013)

Certas malformações genitais nos homens, especialmente distância anogenital curta (AGD), têm vindo a ser associadas à exposição a disruptores endócrinos com atividade antiandrogénica. No mesmo estudo realizado por Miao et al. em 2011, foi também analisada a AGD de filhos de pais expostos e não expostos a BPA. Os resultados revelaram uma relação entre a exposição ao BPA e a AGD, sendo que uma maior exposição a este composto resultaria numa menor distância anogenital, indicando assim que o BPA tem efeitos antiandrogénicos dentro do útero. (Marsee et al., 2006; Miao et al., 2011)

Vários estudos reportaram uma alteração comportamental em crianças expostas ao BPA no útero ou antes da puberdade, indicando uma alteração do desenvolvimento cerebral. No estudo realizado por Braun et al., em 2009, os autores encontraram uma associação entre a quantidade de BPA na urina das mulheres grávidas e o comportamento dos seus filhos aos 2 anos de idade, sendo que apenas nas raparigas se verificou uma maior hiperatividade e agressividade. Braun et al. (2009) acompanharam estas crianças até aos 3 anos de idade, deparando-se com uma correlação entre maior exposição pré-natal ao BPA e aumento de ansiedade, comportamentos depressivos e baixo controlo emocional. Num outro estudo realizado por Maserejian et al., em 2012, crianças com maior exposição a resinas compostas contendo Bis-GMA apresentaram maior nível de ansiedade, depressão, stress social e problemas de relacionamento interpessoal, comparado com crianças expostas a amálgama ou resinas modificadas sem Bis-GMA. (Braun et al., 2009, 2011; Maserejian et al., 2012; Rochester, 2013)

Por fim, outra patologia associada à exposição pré-natal ao BPA é a asma infantil. No estudo realizado por Spanier et al., em 2012, os autores concluíram que uma maior exposição pré-natal ao BPA estava associada a uma maior probabilidade da criança apresentar asma infantil e/ou pieira aos 6 meses de idade, no entanto essa condição estava reduzida ao completar os 3 anos de idade. Foi também demonstrada a indução de

asma em crias de ratos pela exposição pré-natal ao BPA. (Midoro-Horiuti et al., 2010; Rochester, 2013; Spanier et al., 2012)

2. Impacto do BPA no metabolismo

A *diabetes mellitus* tipo 2 tem vindo a ser correlacionada com o BPA em diversos estudos efectuados em humanos. Diversos autores examinaram dados do questionário americano NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) e concluíram que uma maior concentração de BPA urinário estava associada a um maior risco de diagnóstico de diabetes do tipo 2. (Lang et al., 2008; Melzer et al., 2010; Shankar & Teppala, 2011; Silver et al., 2011)

Doenças cardiovasculares e hipertensão são também doenças metabólicas associadas à exposição ao BPA. Lang et al. e Melzer et al., nos estudos referidos anteriormente, depararam-se com uma associação entre uma maior concentração de BPA na urina e um número mais elevado de diagnósticos de doenças cardiovasculares. Num outro estudo, Shankar & Teppala, em 2012, constataram que um nível elevado de BPA urinário estava associado a um aumento da incidência da hipertensão arterial. Bae et al. chegaram à mesma conclusão, num estudo realizado em coreanos adultos. (Bae et al., 2012; Lang et al., 2008; Melzer et al., 2010; Shankar & Teppala, 2012)

Lang et al. e Melzer et al., encontraram também alterações nas funções do fígado em adultos com uma maior concentração de BPA urinário, existindo uma modificação das enzimas presentes no fígado. (Lang et al., 2008; Melzer et al., 2010)

Por último, o índice de massa corporal (IMC) e a obesidade são dos elementos mais investigados no que toca à saúde humana e exposição ao BPA. Diversos estudos utilizando dados do NHANES encontraram correlações entre a concentração de BPA na urina e o IMC e/ou a obesidade. Carwile & Michels, Shankar et al. e Trasande et al. verificaram que uma concentração de BPA urinário mais elevada estava associada a um mais elevado IMC e um maior valor de medida do perímetro da cintura, indicando assim uma associação com a obesidade. (Carwile & Michels, 2011; Shankar et al., 2012; Trasande et al., 2012)

3. Impacto do BPA no sistema reprodutivo feminino

A infertilidade feminina resulta de vários factores tais como ambientais, endócrinos, estilo de vida, entre outros, afectando cerca de 30% das mulheres em todo o mundo. Os factores ambientais causam a exposição a químicos desreguladores do sistema endócrino, que podem simular ou bloquear a atividade endócrina do estrogénio, afectando a reprodução. (Caserta et al., 2013; Mok-Lin et al., 2010; Richter et al., 2007; Zhou et al., 2017)

Diversos estudos feitos em animais demonstraram que o BPA tem um efeito citotóxico no sistema endócrino, influenciando o ciclo estral, tendo assim um impacto negativo na fertilidade feminina. O BPA tem a capacidade de se unir a ambos os receptores nucleares do estrogénio (ER α e ER β). Este composto pode simular a acção do estrogénio, o que sugere que este seja um modulador seletivo do receptor do estrogénio (SERM) ou um agonista parcial destes receptores. O BPA parece também interferir com a esteroidogénese, impedindo a produção de estradiol (E2), outra hormona sexual feminina com um papel importante na reprodução. Estas modificações estão relacionadas com um aumento de atresia folicular, encontrada em doenças que causam infertilidade, como Síndrome do ovário poliquístico (SOPC) e Endometriose. Nos estudos de Ehrlich et al. e Bloom et al., os autores concluíram que uma concentração mais elevada de BPA na urina estaria associado a menos estradiol no organismo e redução na produção de oócitos. (Bloom et al., 2011; Ehrlich et al., 2012; Rochester, 2013; Santangeli et al., 2017)

Hoje em dia, o SOPC é uma das endocrinopatias mais comuns nas mulheres. Os sintomas desta doença incluem disfunção do ciclo menstrual e infertilidade causada por hiperandrogenismo e anovulação. Tanto estudos realizados em humanos como em animais demonstraram um possível papel do BPA na etiopatogenia do SOPC. Diversos estudos apresentam resultados de concentração mais elevada de BPA em mulheres portadoras de SOPC quando comparado com concentrações em mulheres saudáveis. (Akin et al., 2015; Fernández et al., 2010; Jukic et al., 2016; Kandaraki et al., 2011; Matuszczak et al., 2019; Rodríguez et al., 2010)

Existe também alguma evidência sobre a existência de uma conexão entre abortos espontâneos recorrentes e exposição ao BPA. Sugiura-Ogasawara et al. estudaram

pacientes que sofreram entre 3 a 11 abortos consecutivos. Estas mulheres apresentavam uma concentração total de BPA mais elevada que as concentrações encontradas em mulheres saudáveis da mesma cidade. (Rochester, 2013; Sugiura-Ogasawara et al., 2005)

4. Impacto do BPA no sistema reprodutivo masculino

O BPA afecta também a fertilidade masculina. Este interfere na espermatogénese e liga-se ao receptor androgénico (AR), atuando como um agonista deste receptor. (Hejmej et al., 2011; Lassen et al., 2014)

No estudo realizado por Meeker et al., em 2011, entre casais com necessidade de tratamento para a infertilidade, em 98% dos doentes foi encontrado BPA nas amostras de urina, e o nível do mesmo tinha uma correlação negativa com a contagem de espermatozoides. No estudo de Li et al., em 2011, os autores observaram pior qualidade de esperma (concentração, contagem, vitalidade e motilidade dos espermatozoides) em homens que apresentavam maior concentração de BPA urinário. (Li et al., 2011; Meeker et al., 2011)

A testosterona é uma hormona sexual masculina que tem um papel essencial no desenvolvimento dos tecidos do sistema reprodutivo masculino. Nakamura et al., em 2010, na sua investigação em ratos, descobriram que doses mais elevadas de BPA geravam uma diminuição da produção de testosterona. (Matuszczak et al., 2019; Nakamura et al., 2010)

5. Problema e objectivo

Tendo em conta os possíveis efeitos citotóxicos provocados pelo composto BPA, e existindo a possibilidade de este ser libertado dos materiais dentários para a cavidade oral, muitos fabricantes de materiais dentários têm vindo a procurar formas de remover o Bis-GMA da formulação de resinas compostas, sistemas adesivos e selantes dentários. (Van Landuyt et al., 2007; Vasconcelos e Cruz et al., 2019; Yu et al., 2014)

Contudo, apesar deste esforço, estes materiais dentários experimentais sem Bis-GMA necessitam de mais testes, de modo a serem obtidas as melhores propriedades físicas e químicas possíveis. Assim, a maior parte destes produtos dentários existentes no mercado continua a ser à base deste composto, sendo ainda relevante o estudo dos efeitos citotóxicos que este pode apresentar.

Neste contexto, o objectivo desta revisão sistemática e meta-análise é avaliar, de forma qualitativa e quantitativa, os resultados dos vários estudos realizados em modelo murino, que analisam os efeitos citotóxicos do composto Bisfenol-A e as suas possíveis implicações no sistema reprodutivo e fertilidade.

II. Materiais e Métodos

1. Definição do PICO

De modo a ser formulada uma questão para a realização da revisão sistemática, é necessário definir cada parâmetro do PICO.

P (Patient/Population): ratos adultos do sexo masculino e feminino;

I (Intervention): exposição ao Bisfenol A puro/Bis-GMA/Bis-DMA, por via oral e intragástrica;

C (Comparison): grupo de controlo não exposto ao composto;

O (Outcome): número de fêmeas grávidas e número de fetos viáveis;

Assim, nesta revisão sistemática, serão avaliados ratos adultos do sexo masculino e feminino e a influência da exposição ao composto Bisfenol-A puro/Bis-GMA/Bis-DMA na sua fertilidade, analisando factores como o número de fêmeas grávidas e o número de fetos viáveis, comparando-os a um grupo de controlo ao qual não foi administrado este composto.

2. Pesquisa sistemática

A pesquisa sistemática foi realizada a partir de duas bases de dados universais electrónicas, *PubMed/Medline* e *Google Scholar*.

Inicialmente foi feita a pesquisa utilizando cada palavra-chave individualmente. Posteriormente as palavras-chave foram associadas em grupos. Estes grupos foram combinados de modo a se obter uma pesquisa mais específica. O número total de resultados desta pesquisa pode ser observado na Tabela 1.

Após esta pesquisa, foi também realizada uma pesquisa manual, recorrendo à consulta da bibliografia dos artigos finais seleccionados.

3. Critérios de inclusão e exclusão

Para se proceder à seleção dos estudos a incluir nesta revisão sistemática, foram definidos critérios de inclusão e exclusão.

Critérios de inclusão:

- Ensaios clínicos randomizados;
- Estudos realizados em ratos adultos do sexo masculino, feminino ou ambos;
- Análise do número de fêmeas grávidas e /ou número de fetos viáveis;
- Administração dos compostos Bisfenol-A puro/Bis-GMA/Bis-DMA por via oral ou intragástrica.

Critérios de exclusão:

- Revisões sistemáticas;
- Estudos realizados em fêmeas grávidas ou ratos não adultos.

4. Seleção e avaliação da qualidade dos estudos

Tomando em conta estes critérios de inclusão e de exclusão, foi realizada uma seleção criteriosa dos resultados da pesquisa, através da leitura do título, resumo e do próprio artigo na íntegra, de modo a excluir os artigos que não cumprissem rigorosamente os mesmos.

Aos artigos selecionados para a revisão sistemática extraíram-se os seguintes dados:

- Autores e título do estudo;
- Tipo de estudo realizado;
- Qual a população envolvida no estudo;
- Número de animais em cada grupo de estudo;
- Presença ou não de grupo de controlo, e qual o número de animais incluído no mesmo;
- Qual a substância administrada aos grupos de estudo, qual a forma de administração, qual a concentração para cada grupo e qual a duração do tratamento;

- Número de fêmeas grávidas e fetos viáveis em cada grupo de estudo, posteriormente à administração da substância escolhida.

5. Risco de viés

De seguida foi avaliado o risco de enviesamento dos artigos finais selecionados através de um conjunto de perguntas desenvolvidas a partir dos protocolos OHAT, *Risk of Bias Tool*, desenvolvido em Janeiro de 2015, e *SYRCLE's risk of bias tool for animal studies*. (NTP, 2015; Hooijmans et al., 2014)

Foram escolhidas sete (7) perguntas apropriadas ao tipo de estudos e aplicadas a cada um deles, sendo que uma resposta positiva indicaria um baixo risco de enviesamento e uma resposta negativa indicaria um alto risco de enviesamento. Nos casos em que informação não estava presente nos artigos e a resposta à questão era inconclusiva, o risco de enviesamento seria indeterminado.

As perguntas retiradas dos protocolos serviram para recolher informação dos estudos relativamente às características dos grupos de estudo e de controlo, à forma como estes foram divididos, à menção de dados excluídos do estudo, como por exemplo animais que perderam a vida durante a investigação, às condições experimentais de cada grupo e, por fim, se foi administrado algum placebo ao grupo de controlo.

Com estes dados, foram realizados gráficos sobre o risco de enviesamento, de forma a facilitar a visualização do mesmo, como pode ser observado na Figura 3 e na Figura 4.

6. Análise estatística

Os resultados dos artigos selecionados nesta revisão foram convertidos em magnitudes de dose-efeito através do software *dosresmeta*, a correr em *Rstudio* (versão 1.3.1073) e posteriormente exibidos na forma de gráficos de regressão dose-efeito.

A dose correspondia às diferentes concentrações de BPA puro, ou derivado de Bis-GMA ou Bis-DMA administradas, enquanto o efeito avaliado foi a proporção de fêmeas grávidas e o número de fetos viáveis. As magnitudes de dose-efeito foram

posteriormente agrupadas de acordo com o tipo de tratamento, para o ajuste de uma meta-análise de sub-grupos com efeitos randomizados (método da máxima verossimilhança) através do *software OpenMeta[Analyst]* (versão 12.11.14).

Os resultados foram posteriormente impressos na forma de gráficos do tipo *forest-plot* através do mesmo *software*.

III. Resultados

Tabela 1. Pesquisa sistemática das diversas palavras-chave e combinações das mesmas nas bases de dados universais *PubMed/Medline* e *Google Scholar*.

Palavras-chave	<i>PubMed/Medline</i>	<i>Google Scholar</i>
1. “mice” OR “mouse” OR “murine”	3 355 512	4 750 000
2. “bisphenol A” OR “bis-GMA” OR “BPA”	16 767	18 500
3. “reproductive” OR “fertility”	1 404 216	4 100 000
4. “intragastric” OR “ingestion”	255 150	1 780 000
5. “intragastric” AND “ingestion”	1 153	41 700
6. “pregnant females”	2 722	129 000
1 AND 2	2 705	18 400
1 AND 2 AND 3	972	18 200
1 AND 2 AND 3 AND 4	34	16 600
1 AND 2 AND 3 AND 5 AND 6	-	82

Após a pesquisa sistemática, foram identificadas 116 referências no total, sendo 34 retiradas da base de dados *PubMed/Medline* e 82 do *Google Scholar*. Deste número total foram identificados e excluídos os artigos replicados, obtendo-se assim 111 referências no total. Depois da leitura do título e resumo, foram eliminados 84 artigos e, após a leitura completa dos restantes 27 artigos, foram excluídos 21, restando 6 estudos que cumpriram com os critérios de inclusão. Por fim, foi feita uma pesquisa manual, através da consulta da bibliografia destes 6 artigos, levando assim à adição de mais 2

estudos ao número total de artigos incluídos na revisão sistemática. Este processo pode ser observado no fluxograma da Figura 5.

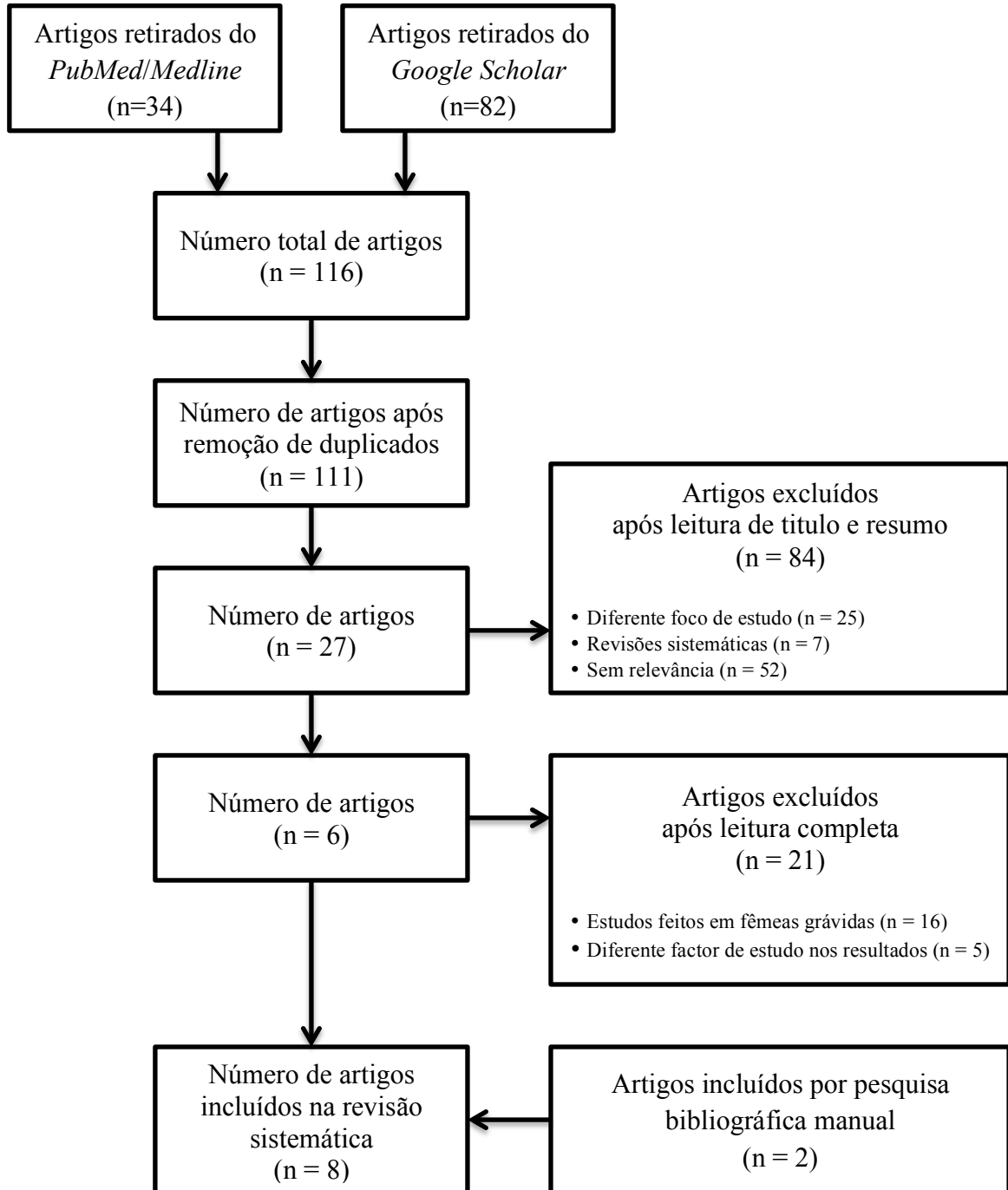


Figura 5. Fluxograma da pesquisa de acordo com o PRISMA.

1. Análise descritiva

Os estudos incluídos na revisão sistemática consistem em 8 estudos de intervenção animal, realizados em ratos adultos de ambos os sexos, aos quais foi administrada uma solução contendo Bisfenol-A em diversas concentrações, podendo estas conter BPA puro, Bis-GMA ou Bis-DMA, e, ao fim de um certo número de dias foi avaliado o impacto deste componente na fertilidade dos animais, ao contabilizar a percentagem de fêmeas grávidas e o número de fetos viáveis.

Nos estudos selecionados o número de ratos utilizados variou entre 20 (Darmani & Al-Hiyasat, 2006) e 100 (Moilanen et al., 2013). A substância administrada variou em alguns estudos, sendo que em todos esta continha BPA. A forma de administração foi oral ou intragástrica, e foi feita diariamente entre 28 e 30 dias, excepto no estudo de Srivastava & Dhagga, 2019, no qual foi feita semanalmente durante 3 meses. (Al-Hiyasat et al., 2002a, 2002b, 2004; Al-Hiyasat & Darmani, 2006; Darmani & Al-Hiyasat, 2004, 2006; Moilanen et al., 2013; Srivastava & Dhagga, 2019)

Nestes estudos foi testada a fertilidade masculina e feminina. No primeiro caso, só os ratos do sexo masculino foram tratados com a substância contendo BPA, e posteriormente agrupados com fêmeas não tratadas, de modo a permitir o processo de acasalamento. No segundo caso, apenas as fêmeas foram tratadas, e posteriormente juntas com machos não tratados. Os animais foram agrupados numa proporção de 1:2 (um macho e duas fêmeas) em todos os estudos excepto nos de Srivastava & Dhagga, 2019, e de Moilanen et al., 2013, nos quais os animais foram agrupados numa proporção de 1:1. No final de cada experiência, as fêmeas foram abatidas e analisadas. Os resultados podem ser observados na Tabela 2 e na Tabela 3.

Tabela 2. Tabela de evidência dos artigos incorporados na revisão sistemática referente à população feminina.

Autores	Título	Tipo de estudo	População	Grupo de estudo	Grupo de controle	Substância administrada	Forma de administração	Duração do tratamento (d)	Concentração (µg/kg/d)	Nº fêmeas grávidas (%)	Fetos viáveis ± SD
Al-Hiyasat, A. et al. (2004) [A]	“Leached components from dental composites and their effects on fertility of female mice”	Estudo de intervenção animal	40 Ratos adultos do sexo feminino	10x3	10	Bisfenol A puro dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm ³ de água destilada	Intragástrica	28	0	90.0	6.66 ± 2.13
									--	--	--
									5	77.7	5.29 ± 3.15
									25	80.0	6.38 ± 2.26
									100	60.0	6.33 ± 2.34
Darmani, H. & Al-Hiyasat, A. (2006)	“The effects of BIS-GMA and TEG-DMA on female mouse fertility”	Estudo de intervenção animal	30 Ratos adultos do sexo feminino	10x2	10	Bis-GMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm ³ de água destilada	Intragástrica	28	0	80.0	7.88 ± 1.73
									25	80.0	9.13 ± 1.36
									100	70.0	6.29 ± 1.25
Darmani, H. & Al-Hiyasat, A. (2004)	“Reproductive toxic effect of bisphenol A dimethacrylate in mice”	Estudo de intervenção animal	40 Ratos adultos do sexo feminino	10x3	10	Bis-DMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm ³ de água destilada	Intragástrica	28	0	100	8.40 ± 1.51
									5	77.7	8.14 ± 2.73
									25	80.0	7.00 ± 1.69
									100	37.5	4.67 ± 3.06
									--	--	--
Al-Hiyasat, A. et al. (2004) [B]	“Leached components from dental composites and their effects on fertility of female mice”	Estudo de intervenção animal	22 Ratos adultos do sexo feminino	11	11	Componentes libertados de uma resina composta contendo bis-GMA, dissolvidos em água destilada	Intragástrica	28	0	100	6.4 ± 0.8
									Indeterminado	55.0	7.2 ± 1.1

Tabela 2. Tabela de evidência dos artigos incorporados na revisão sistemática referente à população feminina. (cont.)

Autores	Título	Tipo de estudo	População	Grupo de estudo	Grupo de controlo	Substância administrada	Forma de administração	Duração do tratamento (d)	Concentração (µg/kg/d)	Nº fêmeas grávidas (%)	Fetos viáveis ± SD
Moilanen, L. et al. (2013)	“Reproductive Toxicity Evaluation of the Dental Resin Monomer Bisphenol A Glycidyl Methacrylate in mice”	Estudo de intervenção animal	100 Ratos adultos do sexo feminino	25x3	25	Bis-GMA dissolvido em etanol	Oral	28	0	87.5	-
									--	--	
									8	100	
									---	---	
									80	96.0	
Srivastava, S. & Dhagga, N. (2019)	“Dose exposure of Bisphenol-A on female Wistar rats fertility”	Estudo de intervenção animal	60 Ratos adultos do sexo feminino	10x5	10	Bisfenol A puro diluído em azeite	Oral	90	---	---	-
									800	96.0	
									0	100	
									--	--	
									700	100	
									---	---	
									7000	30.0	
									---	---	
									42900	20.0	
									---	---	
									85700	0	
									---	---	
									114300	0	
									---	---	

Tabela 3. Tabela de evidência dos artigos incorporados na revisão sistemática referente à população masculina.

Autores	Título	Tipo de estudo	População	Grupo de estudo	Grupo de controle	Nº de fêmeas	Substância administrada	Forma de administração	Duração do tratamento (d)	Concentração (µg/kg/d)	Nº fêmeas grávidas (%)	Fetos viáveis ± SD
Al-Hiyasat, A. et al. (2002)	“Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility”	Estudo de intervenção animal	40 Ratos adultos do sexo masculino	10x3	10	4x20	Bisfenol A puro dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm ³ de água destilada	Intragástrica	30	0	90.0	7 ± 2.8
										--	--	--
										0,005	70.0	7 ± 1.7
										---	---	---
										0,025	55.0	8 ± 2.6
Al-Hiyasat, A. & Darmani, H. (2006)	“In vivo effects of BISGMA - a component of dental composite - on male mouse reproduction and fertility”	Estudo de intervenção animal	30 Ratos adultos do sexo masculino	10x2	10	3x20	Bis-GMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm ³ de água destilada	Intragástrica	28	0,1	60.0	8 ± 1.7
										0	95.0	7.42 ± 1.54
										--	--	--
										25	70.0	5.93 ± 1.49
										---	---	---
Darmani, H. & Al-Hiyasat, A. (2004)	“Reproductive toxic effect of bisphenol A dimethacrylate in mice”	Estudo de intervenção animal	40 Ratos adultos do sexo masculino	10x3	10	4x20	Bis-DMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm ³ de água destilada	Intragástrica	28	100	38.9	6.29 ± 1.25
										0	95.0	7.05 ± 1.93
										--	--	--
										5	70.0	7.93 ± 2.16
										---	---	---
										25	60.0	7.00 ± 1.95
										---	---	---
										100	16.6	5.67 ± 2.31

Tabela 3. Tabela de evidência dos artigos incorporados na revisão sistemática referente à população masculina. (cont.)

Autores	Título	Tipo de estudo	População	Grupo de estudo	Grupo de controle	Nº de fêmeas	Substância administrada	Forma de administração	Duração do tratamento (d)	Concentração (µg/kg/d)	Nº fêmeas grávidas (%)	Fetos viáveis ± SD
Al-Hiyasat, A. et al. (2002)	“Effects of resin based dental composites on fertility of male mice”	Estudo de intervenção animal	20 Ratos adultos do sexo masculino	10	10	2x20	Componentes libertados de uma resina composta contendo bis-GMA, dissolvidos em água destilada	Intragástrica	28	0	90.0	7.50 ±
										--	--	0.68
										Indeterminado	60.0	-- 6.73 ± 1.30
Moilanen, L. et al. (2013)	“Reproductive Toxicity Evaluation of the Dental Resin Monomer Bisphenol A Glycidyl Methacrylate in mice”	Estudo de intervenção animal	100 Ratos adultos do sexo masculino	25x3	25	4x25	Bis-GMA dissolvido em etanol	Oral	28	0	100	-
										--	--	
										8	100	
										---	---	
										80	100	
										---	---	
										800	88.0	

2. Risco de viés

Sivastava, S. & Dhagga, N. (2019)	Moiilanen, L. et al. (2013)	Al-Hiyasat, A. et al. (2002)	Al-Hiyasat, A. & Darmani, H. (2006)	Al-Hiyasat, A. et al. (2002)	Darmani, H. & Al-Hiyasat, A. (2004)	Darmani, H. & Al-Hiyasat, A. (2006)	Al-Hiyasat, A. et al. (2004)
+	+	+	+	+	+	+	+
?	-	?	?	?	?	?	?
?	?	?	?	?	?	?	?
-	+	+	+	?	+	?	+
+	-	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+

Os grupos de estudo eram constituídos por animais com características similares?

A colocação dos animais nos diferentes grupos foi ocultada adequadamente?

O conhecimento de qual intervenção cada animal recebeu foi ocultado dos investigadores e/ou cuidadores dos mesmos?

Os dados excluídos dos resultados foram adequadamente indicados?

O estudo aparentava estar livre de problemas que poderiam influenciar um aumento de risco de enviesamento?

As condições experimentais foram idênticas nos diversos grupos?

Algum placebo foi administrado aos animais de modo a standardizar a manipulação dos mesmos?

Figura 3. Gráfico do risco de enviesamento de cada pergunta aplicada aos estudos.

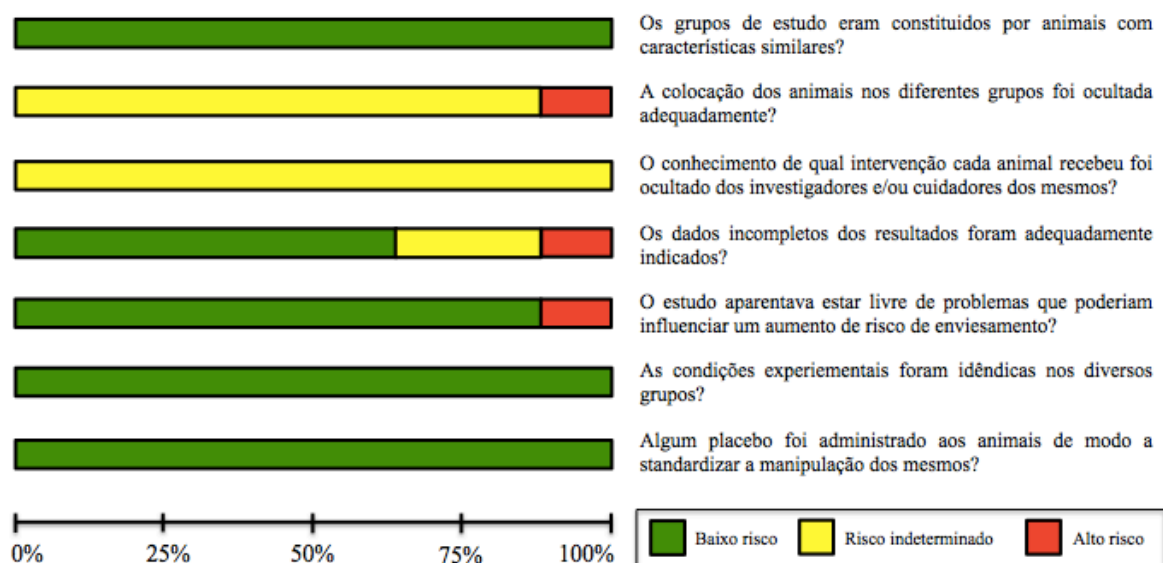


Figura 4. Gráfico do risco de enviesamento, no qual está representada a resposta a cada questão para todos os estudos incluídos.

3. Meta-análise

Nesta meta-análise foram aferidos e comparados os valores quantitativos obtidos pelos estudos mencionados, sendo que a infertilidade feminina e a infertilidade masculina foram analisados separadamente.

Relativamente aos resultados obtidos quando se aplicava o tratamento aos ratos do sexo feminino, foi analisada a magnitude de dose-efeito no risco relativo de infertilidade quando administradas diferentes substâncias, todas contendo BPA, podendo estas ter sido administradas de forma intragástrica ou oral. Os gráficos de regressão linear e não linear que ilustram esta magnitude dose-efeito das várias substâncias administradas e respectiva forma de administração, podem ser observados nas Figuras 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15.

O critério de informação de *Akaike* (AIC) dá-nos a informação de qual dos gráficos (linear ou não linear) apresenta resultados mais precisos, ou seja, mais consistentes com os resultados reais. Assim, os gráficos que apresentam um valor de AIC menor são os mais semelhantes ao modelo real dos resultados.

No caso da administração intragástrica, foi observado que a substância administrada que teve um maior efeito na redução da fertilidade dos ratos fêmea foi o Bis-GMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm³ de água destilada, seguido pelo Bis-DMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm³ de água destilada, e por último, a substância com um menor efeito foi o Bisfenol A puro dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm³ de água destilada. No caso da administração oral, observou-se que entre o Bisfenol A puro e o Bis-GMA não houve diferenças estatisticamente significativas do efeito na redução da fertilidade. Quando comparadas as duas formas de administração, verificou-se que a forma mais tóxica, ou seja, que teve um maior efeito negativo na fertilidade das fêmeas, foi a administração intragástrica. Estes dados podem ser conferidos na Figura 16.

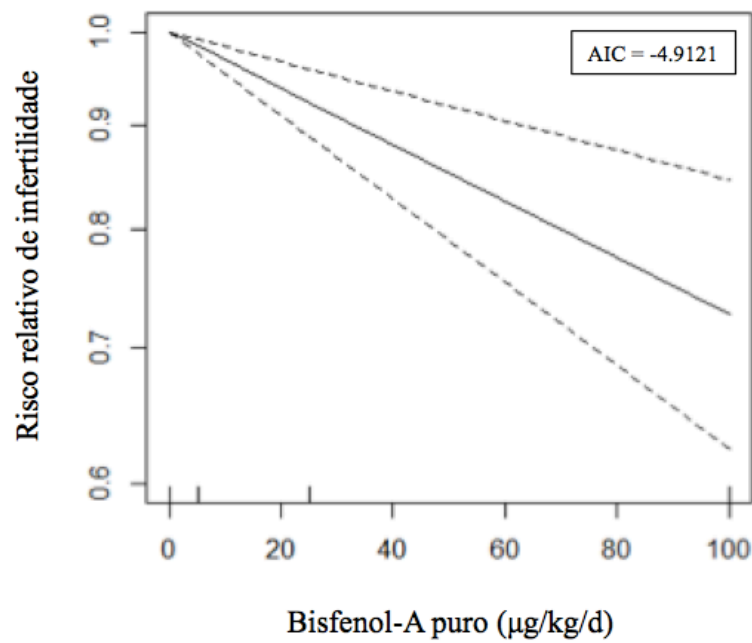


Figura 6. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em µg/kg/d. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

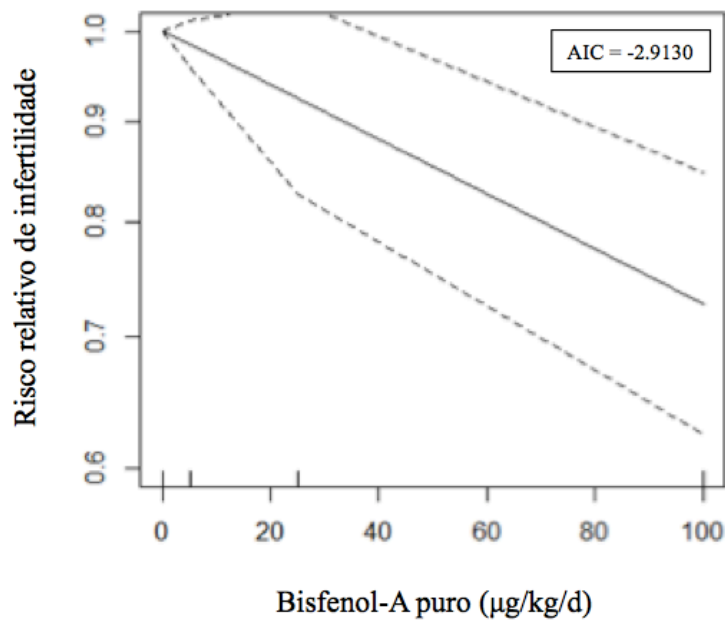


Figura 7. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em µg/kg/d. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

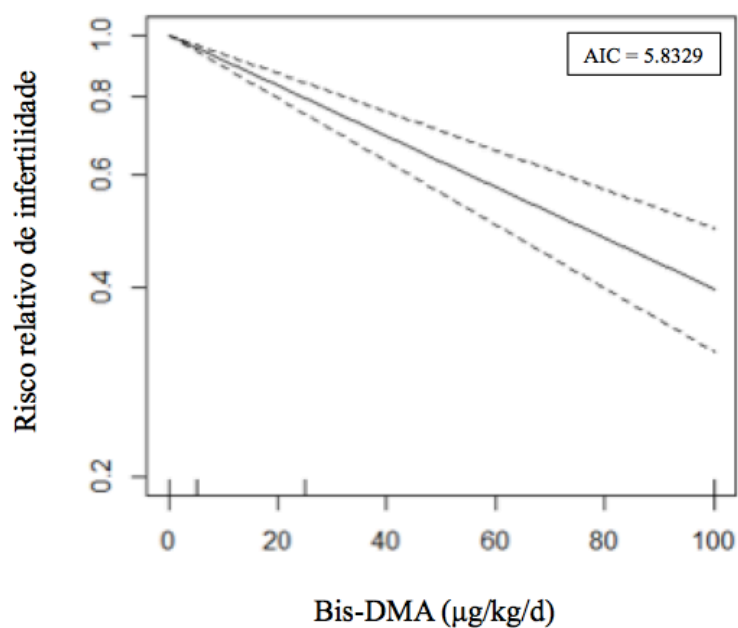


Figura 8. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.

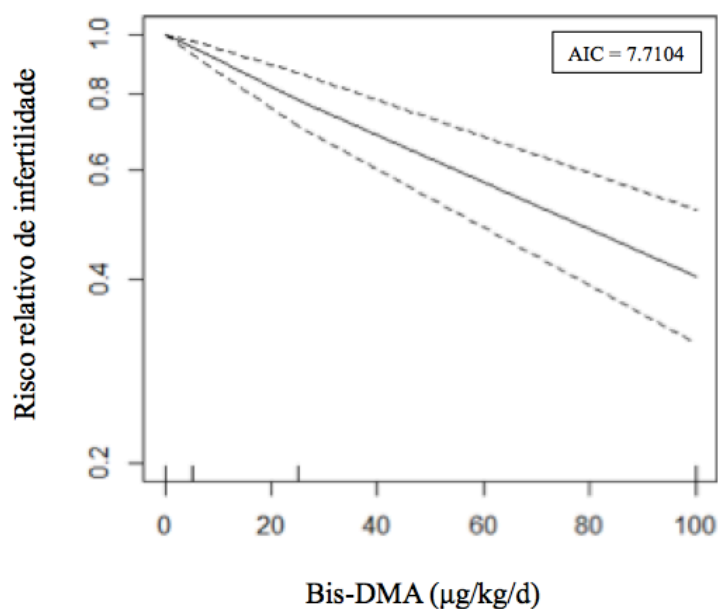


Figura 9. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de Akaike.

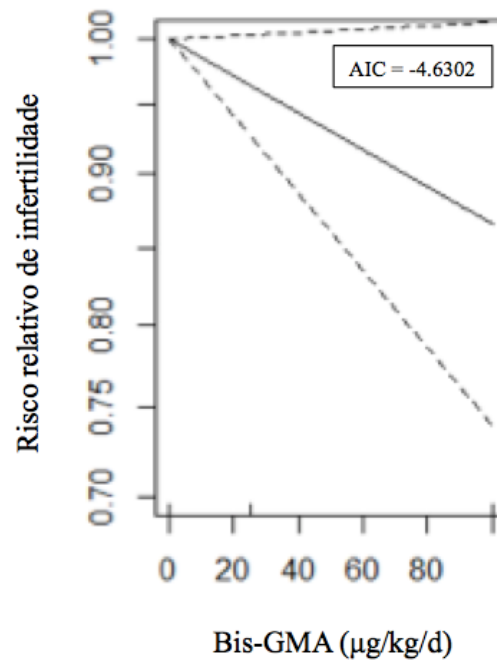


Figura 10. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

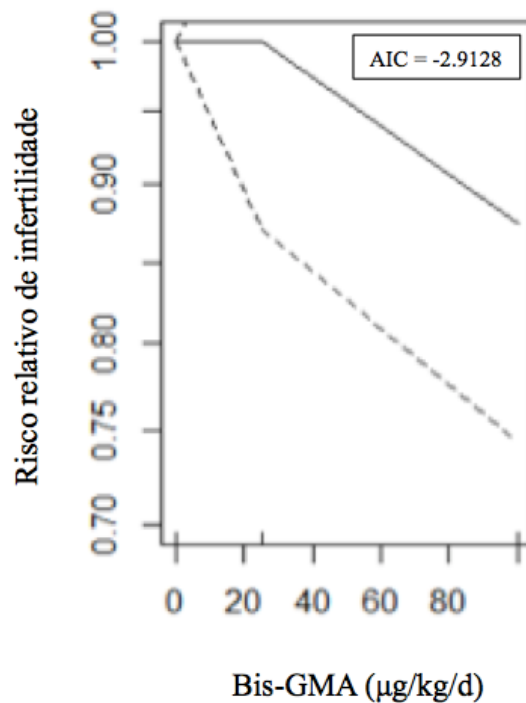


Figura 11. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

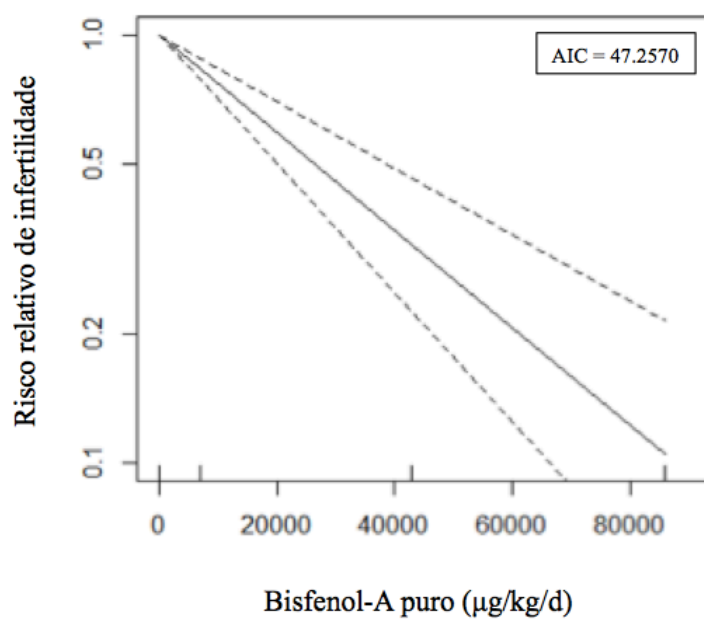


Figura 12. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

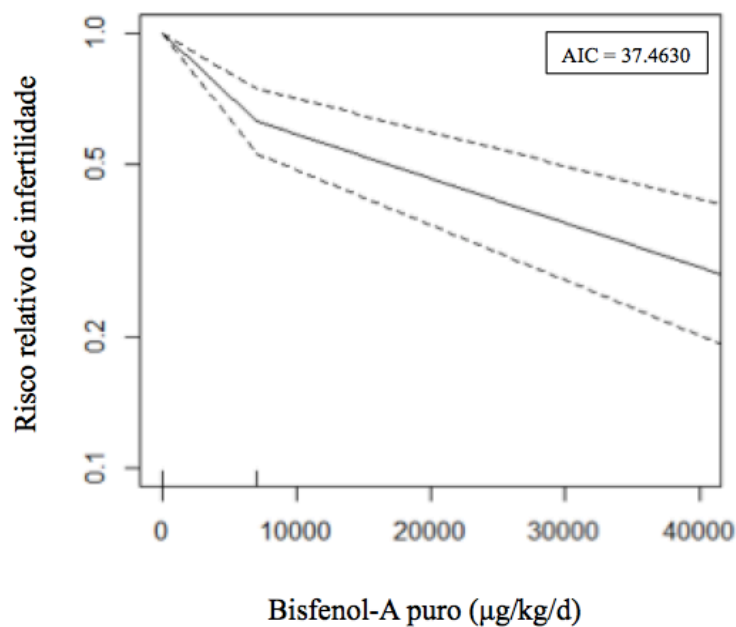


Figura 13. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

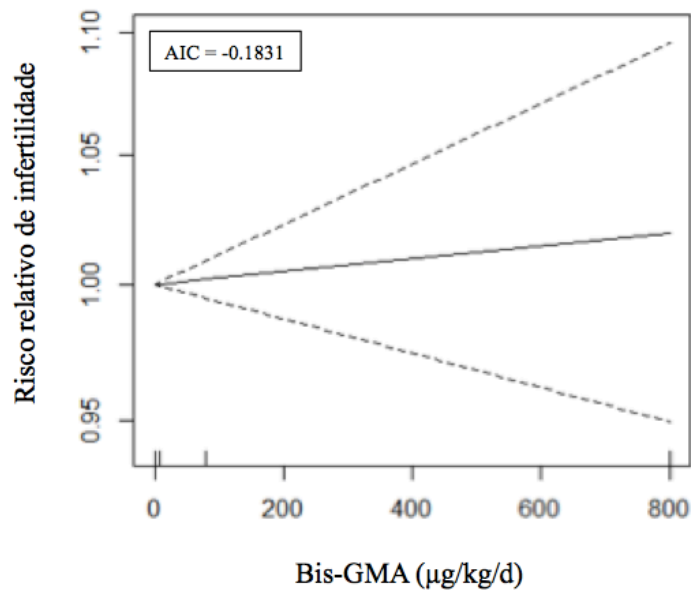


Figura 14. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

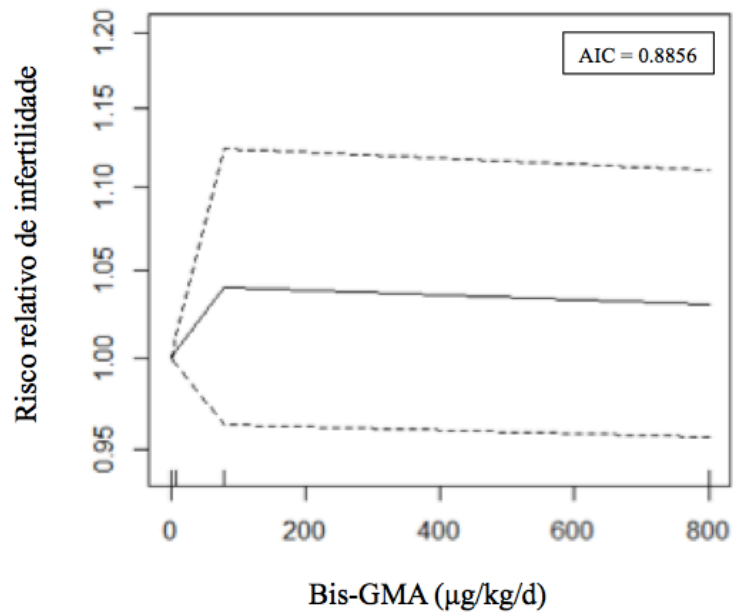


Figura 15. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA oralmente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

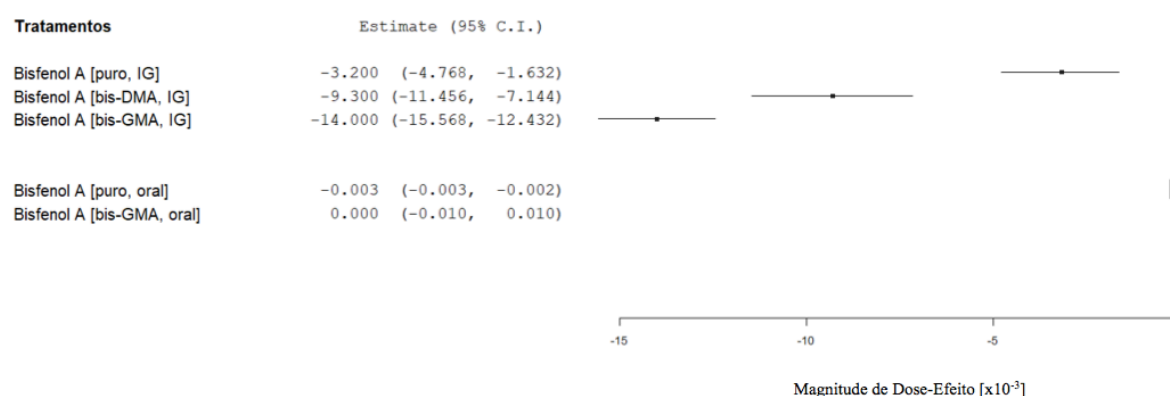


Figura 16. Comparação da magnitude dose-efeito, no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo feminino, das várias substâncias administradas e da forma de administração.

Relativamente aos resultados obtidos quando se aplicava o tratamento aos ratos do sexo masculino, foi analisada a magnitude de dose-efeito no risco relativo de infertilidade quando administradas diferentes substâncias, todas contendo BPA, ambas administradas de forma intragástrica. Os gráficos de regressão linear e não linear que ilustram esta magnitude dose-efeito das várias substâncias administradas, podem ser observados nas Figuras 17, 18, 19 e 20.

Foi observado que a substância administrada que teve um maior efeito na redução da fertilidade dos ratos macho foi o Bisfenol A dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm³ de água destilada, seguido pelo Bis-GMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm³ de água destilada, que teve um menor efeito tóxico, como pode ser observado na Figura 21.

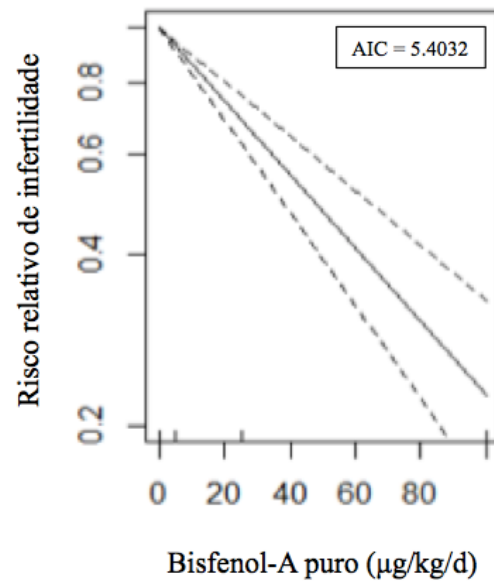


Figura 17. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

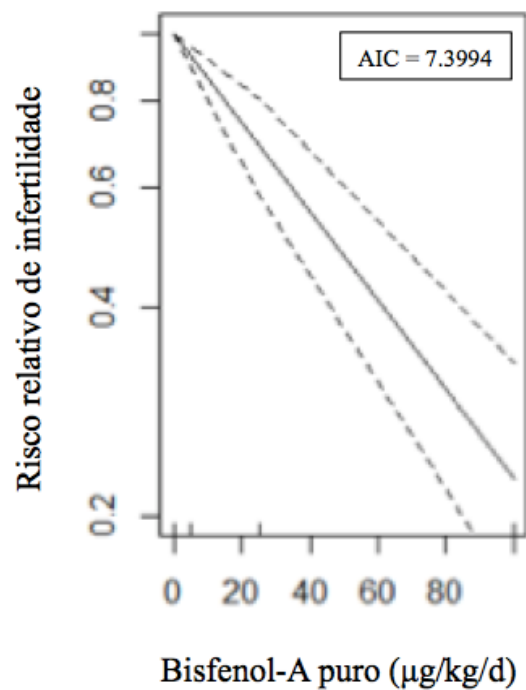


Figura 18. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

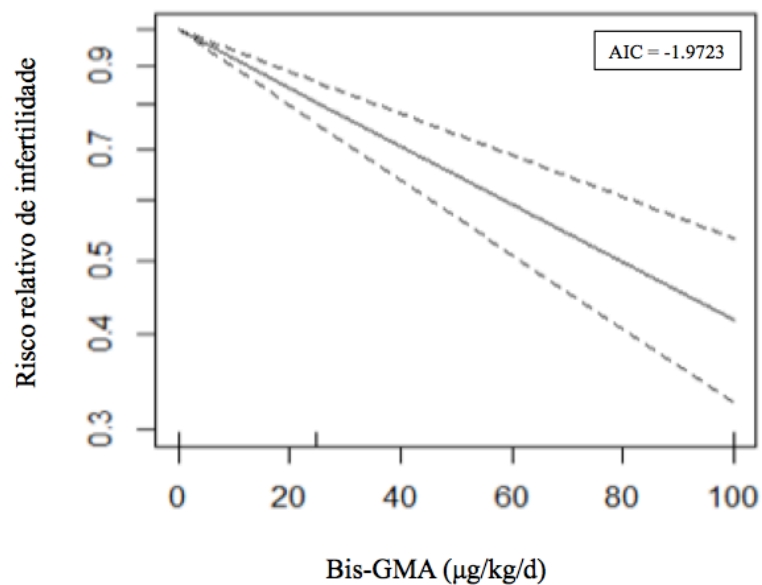


Figura 19. Gráfico da regressão linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em µg/kg/d. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

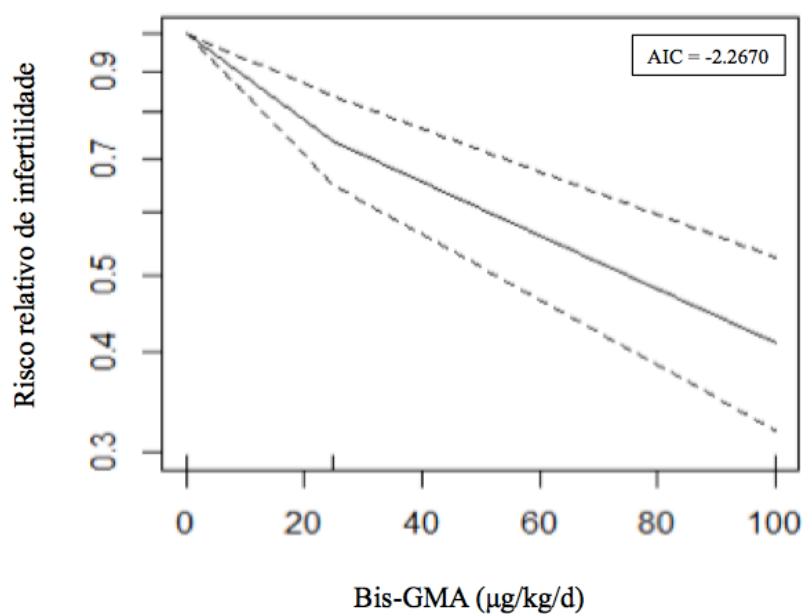


Figura 20. Gráfico da regressão não-linear da magnitude dose-efeito no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em µg/kg/d. O AIC corresponde ao critério de informação de *Akaike*.

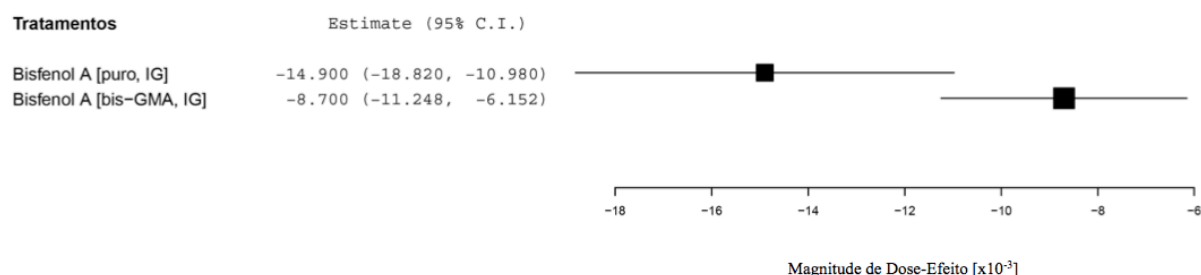


Figura 21. Comparação da magnitude dose-efeito, no risco relativo de infertilidade dos ratos do sexo masculino, das várias substâncias administradas.

Nesta meta-análise foi também analisada a magnitude de dose-efeito no número de fetos viáveis quando administradas diferentes substâncias, todas contendo BPA, de forma intragástrica.

Os gráficos que ilustram esta magnitude dose-efeito das várias substâncias administradas às fêmeas, podem ser observados nas Figuras 22, 23, e 24.

Relativamente às fêmeas tratadas, constatou-se que o substrato que teve um maior efeito negativo na viabilidade dos fetos foi o Bis-DMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm^3 de água destilada, seguido pelo Bis-GMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm^3 de água destilada, e por último o Bisfenol A puro dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm^3 de água destilada foi o que teve um menor efeito no número de fetos viáveis, como pode ser observado na Figura 25.

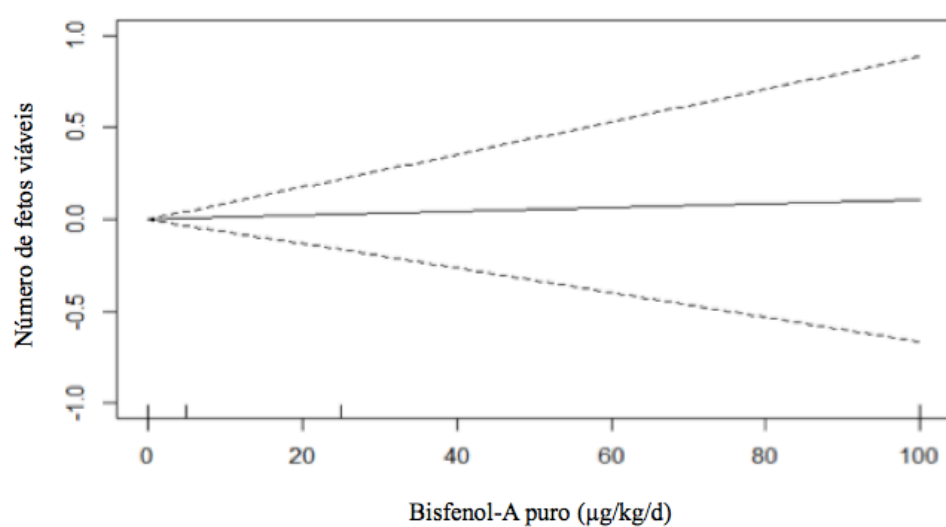


Figura 22. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bisfenol-A puro intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$.

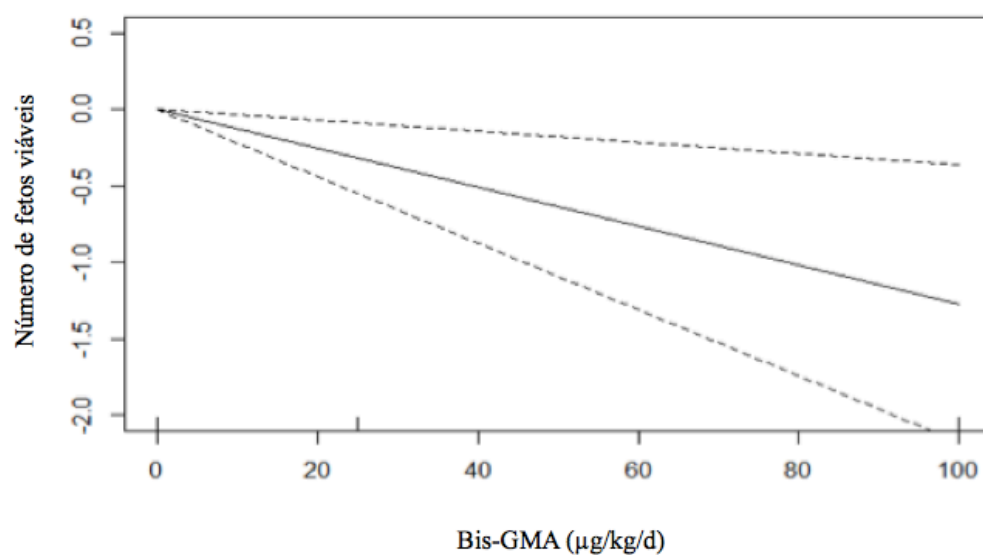


Figura 23. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$.

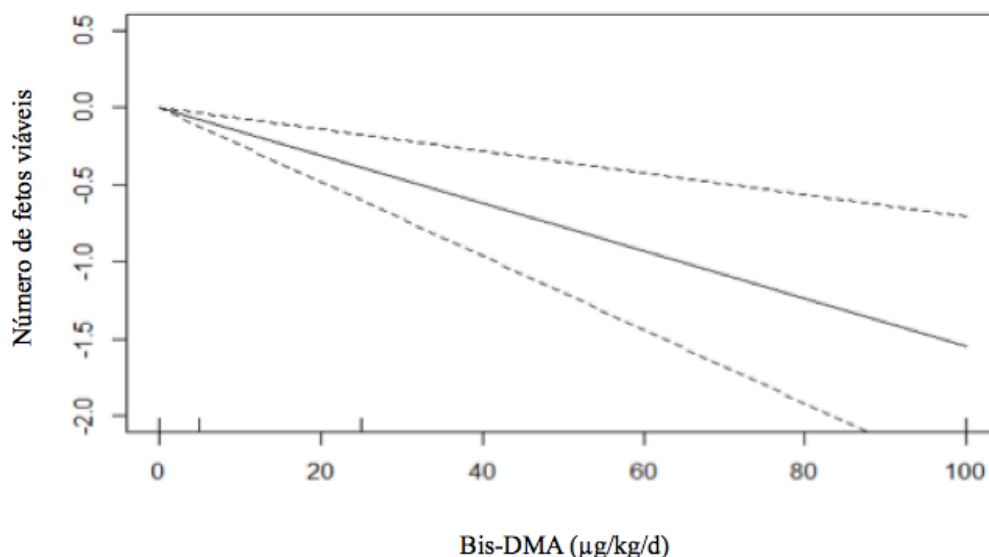


Figura 24. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, quando administrado Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$.

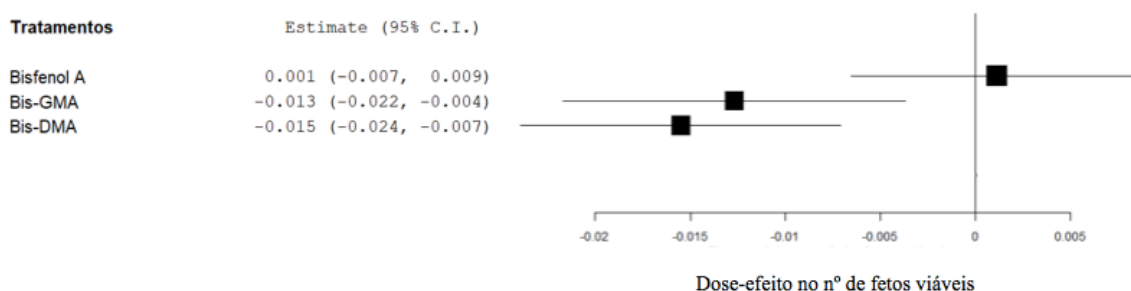


Figura 25. Comparação da magnitude dose-efeito, na viabilidade dos fetos dos ratos do sexo feminino, das várias substâncias administradas.

Os gráficos que ilustram esta magnitude dose-efeito das várias substâncias administradas aos machos, podem ser observados nas Figuras 26 e 27.

Relativamente aos ratos do sexo masculino, foi observado que o Bis-DMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm^3 de água destilada teve um maior efeito negativo na viabilidade dos fetos das fêmeas não tratadas acasaladas com machos tratados, seguido pelo Bis-GMA dissolvido em 1ml de etanol e diluído em 1dm^3 de água destilada que teve um menor efeito no número de fetos viáveis, como pode ser observado na Figura 28.

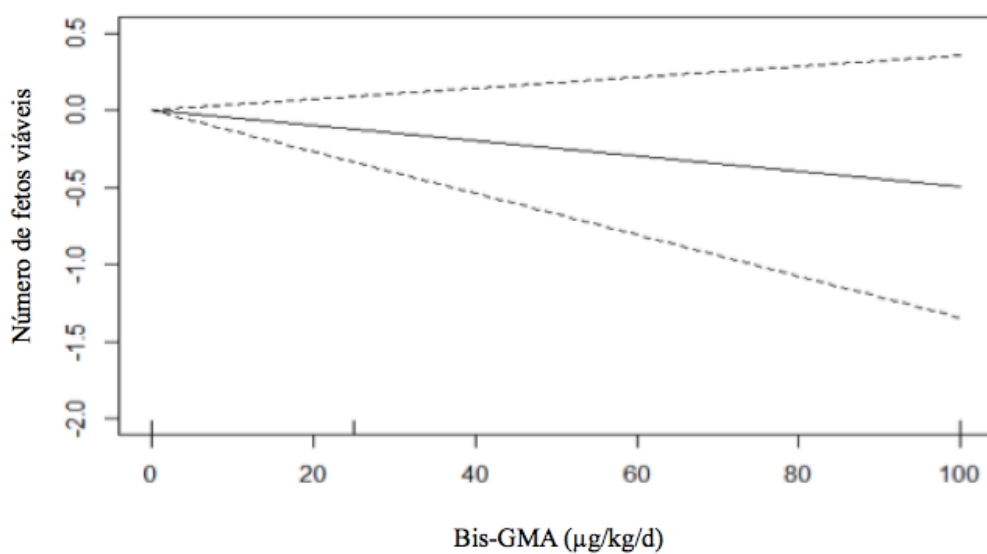


Figura 26. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos das fêmeas acasaladas com machostratados com Bis-GMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$.

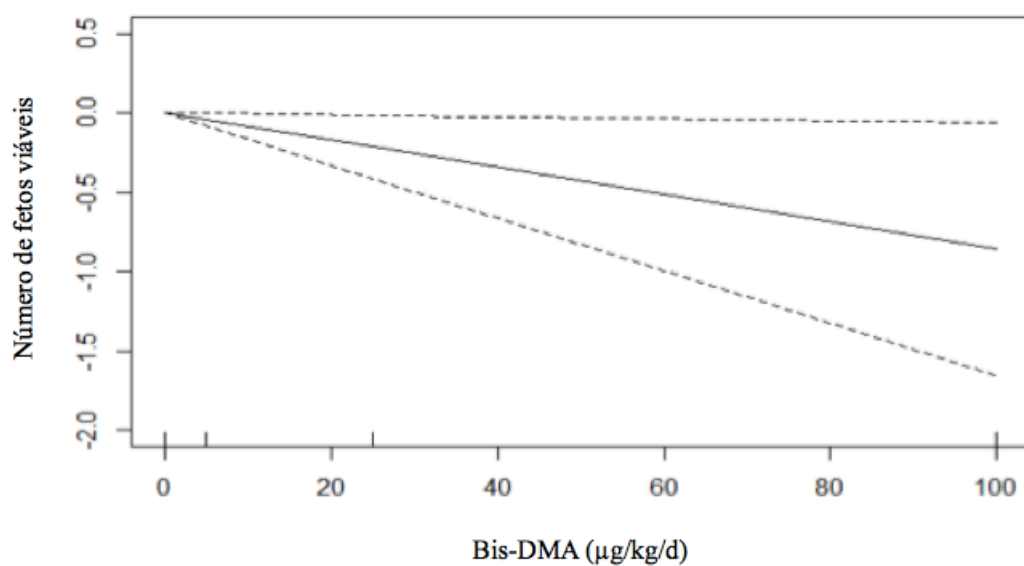


Figura 27. Gráfico da magnitude dose-efeito na viabilidade dos fetos das fêmeas acasaladas com machos tratados com Bis-DMA intragastricamente, em $\mu\text{g/kg/d}$.

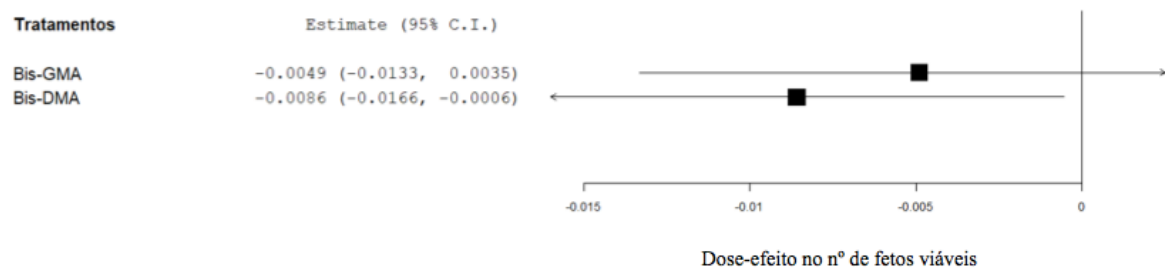


Figura 28. Comparação da magnitude dose-efeito, na viabilidade dos fetos das fêmeas acasalados com machos tratados, das várias substâncias administradas.

IV. Discussão

Esta revisão sistemática procura encontrar a evidência disponível subjacente à questão do efeito negativo do composto Bisfenol-A na fertilidade, recorrendo a estudos em modelo murino.

O uso generalizado de resinas compostas em Medicina Dentária, acompanhado pela observação de lixiviação de componentes potencialmente tóxicos das mesmas, incitou discussão e alguma controvérsia no que toca à segurança do uso destes materiais dentários. (Moilanen et al., 2013)

Pelos resultados obtidos nesta revisão, podemos observar que a administração intragástrica das várias formas de BPA, ou seja, BPA puro, ou eluído de Bis-GMA e Bis-DMA, originou uma diminuição do número de fêmeas grávidas, sugerindo assim um aumento do efeito no risco relativo de infertilidade, concordante com a dose administrada. Estes resultados mostram também uma diminuição do número de fetos viáveis aquando da administração dos mesmos compostos.

Como já mencionado, o BPA tem vindo a ser descrito na literatura como um disruptor endócrino, o que pode explicar estas alterações.

A exposição pré-natal de ratos ao BPA origina alterações na organização dos tecidos dentro dos ovários e das glândulas mamárias, assim como cria disrupções no ciclo estral na idade adulta. (Markey et al., 2003)

Foi também reportado que o BPA afecta a maturação dos oócitos, as células germinativas femininas, essenciais ao processo de reprodução. Vários estudos *in vitro* demonstraram que a exposição ao BPA provoca degeneração dos oócitos por modificação da meiose. (Briño-Enríquez et al., 2011; Matuszczak et al., 2019; Tomza-Marciniak et al., 2018; Zhou et al., 2017)

As reabsorções embrionárias verificadas em algumas fêmeas expostas ao BPA, Bis-GMA e Bis-DMA, provavelmente resultaram de modificações da função do colo do útero antes da chegada do embrião. A exposição tóxica maternal pode causar

reabsorções precoces, diminuição do peso do feto ou até morte do feto. (Al-Hiyasat et al., 2004; Darmani & Al-Hiyasat, 2004, 2006)

Por outro lado, a administração oral de BPA e de Bis-GMA aos ratos do sexo feminino não teve efeito significativo no seu risco relativo de infertilidade, sugerindo assim que a cavidade oral tem uma menor permeabilidade ao BPA comparativamente ao estômago.

No que diz respeito aos resultados dos ratos do sexo masculino, podemos observar que a administração intragástrica gerou um efeito negativo no risco relativo de infertilidade e na viabilidade dos fetos, concordante com as doses administradas.

Esta diminuição da fertilidade masculina pode ser explicada pelo facto de o xenoestrogénio BPA atuar diretamente nos testículos e assim influenciar a via de biossíntese de andrógenos, o que possivelmente afecta a atividade sexual. (Al-Hiyasat et al., 2002a; Amann, 1982)

O potencial reprodutivo masculino é dependente das células *Sertoli*, que são cruciais no processo de desenvolvimento dos espermatozoides. Estudos realizados em células *Sertoli* de ratos demonstraram que o BPA tem a capacidade de diminuir a sua vitalidade e induzir apoptose destas células. (Iida et al., 2003; Qi et al., 2014; Tomza-Marciniak et al., 2018; Wang et al., 2014)

O aumento das reabsorções embrionárias das fêmeas não tratadas acasaladas com machos tratados pode ser atribuído ao aumento da mortalidade de óvulos fertilizados não saudáveis devido a alterações na qualidade do esperma, causadas pela ingestão de BPA. (Al-Hiyasat et al., 2002a)

Os resultados desta revisão mostram também uma diminuição do número de fetos viáveis resultantes tanto de fêmeas tratadas como de fêmeas não tratadas acasaladas com machos tratados.

Estes resultados estão em linha com um estudo *in vitro* de 2005 por Schwengberg et al., realizado em células embrionárias de ratos, que reportou que o Bis-GMA apresenta um forte efeito embriotóxico. Este composto foi capaz de induzir um elevado efeito embriotóxico e teratogénico, resultando numa redução em 50% da sobrevivência celular e uma forte inibição da diferenciação celular, alterando consoante a concentração. Este efeito embriotóxico pode estar relacionado com a sua estrutura molecular e a sua

característica lipofílica, podendo atravessar membranas celulares e nucleares e possivelmente leve a quebras da cadeia de DNA. (Al-Hiyasat & Darmani, 2006; Kleinsasser et al., 2004; Schwengberg et al., 2005)

Em suma, sob as condições dos estudos incluídos nesta revisão, os resultados sugerem que a exposição direta intragástrica aos compostos contendo BPA afecta negativamente a fertilidade murina, tanto feminina como masculina, afectando também a viabilidade dos fetos resultantes das gravidezes possíveis. Todavia, a exposição oral a estes compostos não tem efeitos significativos no risco relativo de fertilidade. No entanto, é necessário ter em conta que as dosagens utilizadas nestes estudos podem ser consideradas relativamente elevadas quando comparadas com as quantidades ingeridas na cavidade oral por lixiviação de materiais dentários.

V. Conclusão

De acordo com a literatura atual, a exposição ao composto Bisfenol-A aparenta ter um impacto negativo na saúde humana. Este composto pode apresentar-se de formas variadas e em objetos do quotidiano, nomeadamente em materiais dentários utilizados na cavidade oral, existindo assim a possibilidade de ser absorvido pelo organismo. Com base nos resultados desta revisão sistemática, o BPA, nas suas diversas formas, parece ter um efeito negativo na fertilidade murina quando absorvido diretamente no estômago, no entanto é necessário ter em conta que as dosagens administradas aos ratos nos estudos incluídos na revisão podem ser consideradas relativamente elevadas quando comparadas com as quantidades libertadas a partir dos materiais dentários em boca. Assim, não é claro se o BPA afecta a fertilidade humana, no entanto, tendo em conta a literatura, é pertinente o desenvolvimento de materiais dentários com substitutos para este composto, de modo a este ser retirado das suas formulações.

VI. Bibliografia

- Akin, L., Kendirci, M., Narin, F., Kurtoglu, S., Saraymen, R., Kondolot, M., Koçak, S., & Elmali, F. (2015). The endocrine disruptor bisphenol A may play a role in the aetiopathogenesis of polycystic ovary syndrome in adolescent girls. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 104(4), e171–e177. <https://doi.org/10.1111/apa.12885>
- Al-Hiyasat, A. S., Darmani, H., & Elbetieha, A. M. (2002a). Effects of bisphenol A on adult male mouse fertility. *European Journal of Oral Sciences*, 110(2), 163–167. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2002.11201.x>
- Al-Hiyasat, A. S., Darmani, H., & Elbetieha, A. M. (2002b). Effects of resin based dental composites on fertility of male mice. *European Journal of Oral Sciences*, 110(1), 44–47. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2002.00163.x>
- Al-Hiyasat, A. S., Darmani, H., & Elbetieha, A. M. (2004). Leached components from dental composites and their effects on fertility of female mice. *European Journal of Oral Sciences*, 112(3), 267–272. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.2004.00136.x>
- Al-Hiyasat, A. S., & Darmani, H. (2006). *In vivo* effects of BISGMA - a component of dental composite - on male mouse reproduction and fertility. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 78A, 66–72.
- Amann, R. P. (1982). Use of animal models for detecting specific alterations in reproduction. *Toxicological Sciences*, 2(1), 13–26. <https://doi.org/10.1093/toxsci/2.1.13>
- Bae, S., Kim, J. H., Lim, Y. H., Park, H. Y., & Hong, Y. C. (2012). Associations of bisphenol a exposure with heart rate variability and blood pressure. *Hypertension*, 60(3), 786–793. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.112.197715>
- Bloom, M. S., Kim, D., Vom Saal, F. S., Taylor, J. A., Cheng, G., Lamb, J. D., & Fujimoto, V. Y. (2011). Bisphenol A exposure reduces the estradiol response to

- gonadotropin stimulation during in vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 96(3), 672-677.e2. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2011.06.063>
- Braun, J. M., Kalkbrenner, A. E., Calafat, A. M., Yolton, K., Ye, X., Dietrich, K. N., & Lanphear, B. P. (2011). Impact of early-life bisphenol A exposure on behavior and executive function in children. *Pediatrics*, 128(5), 873–882. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-1335>
- Braun, J. M., Yolton, K., Dietrich, K. N., Hornung, R., Ye, X., Calafat, A. M., & Lanphear, B. P. (2009). Prenatal bisphenol A exposure and early childhood behavior. *Environmental Health Perspectives*, 117(12), 1945–1952. <https://doi.org/10.1289/ehp.0900979>
- Brieño-Enríquez, M. A., Robles, P., Camats-Tarruella, N., García-Cruz, R., Roig, I., Cabero, L., Martínez, F., & Caldés, M. G. (2011). Human meiotic progression and recombination are affected by Bisphenol A exposure during in vitro human oocyte development. *Human Reproduction*, 26(10), 2807–2818. <https://doi.org/10.1093/humrep/der249>
- Carwile, J. L., & Michels, K. B. (2011). Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003-2006. *Environmental Research*, 111(6), 825–830. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.05.014>
- Caserta, D., Bordi, G., Ciardo, F., Marci, R., La Rocca, C., Tait, S., Bergamasco, B., Stecca, L., Mantovani, A., Guerranti, C., Fanello, E. L., Perra, G., Borghini, F., Focardi, S. E., & Moscarini, M. (2013). The influence of endocrine disruptors in a selected population of infertile women. *Gynecological Endocrinology*, 29(5), 444–447. <https://doi.org/10.3109/09513590.2012.758702>
- Darmani, H., & Al-Hiyasat, A. S. (2004). Reproductive toxic effect of bisphenol A dimethacrylate in mice. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 69(4), 637–643. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30029>
- Darmani, H., & Al-Hiyasat, A. S. (2006). The effects of BIS-GMA and TEG-DMA on female mouse fertility. *Dental Materials*, 22(4), 353–358. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2005.04.029>

- Ehrlich, S., Williams, P. L., Missmer, S. A., Flaws, J. A., Ye, X., Calafat, A. M., Petrozza, J. C., Wright, D., & Hauser, R. (2012). Urinary bisphenol A concentrations and early reproductive health outcomes among women undergoing IVF. *Human Reproduction*, 27(12), 3583–3592. <https://doi.org/10.1093/humrep/des328>
- Fernández, M., Bourguignon, N., Lux-Lantos, V., & Libertun, C. (2010). Neonatal exposure to bisphenol A and reproductive and endocrine alterations resembling the polycystic ovarian syndrome in adult rats. *Environmental Health Perspectives*, 118(9), 1217–1222. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901257>
- Fleisch, A. F., Sheffield, P. E., Chinn, C., Edelstein, B. L., & Landrigan, P. J. (2010). Bisphenol A and related compounds in dental materials. *Pediatrics*, 126(4), 760–768. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2693>
- Hejmej, A., Kotula-Balak, M., & Bilinsk, B. (2011). Antiandrogenic and Estrogenic Compounds: Effect on Development and Function of Male Reproductive System. *Steroids - Clinical Aspect*. <https://doi.org/10.5772/28538>
- Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., De Vries, R. B. M., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., & Langendam, M. W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Medical Research Methodology*, 14(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>
- Hume, W. R., & Gerzina, T. M. (1996). Bioavailability of components of resin-based materials which are applied to teeth. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 7(2), 172–179. <https://doi.org/10.1177/10454411960070020501>
- Huo, X., Chen, D., He, Y., Zhu, W., Zhou, W., & Zhang, J. (2015). Bisphenol-a and female infertility: A possible role of gene-environment interactions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(9), 11101–11116. <https://doi.org/10.3390/ijerph120911101>
- Iida, H., Maehara, K., Doiguchi, M., Mōri, T., & Yamada, F. (2003). Bisphenol A-induced apoptosis of cultured rat Sertoli cells. *Reproductive Toxicology*, 17(4), 457–464. [https://doi.org/10.1016/S0890-6238\(03\)00034-0](https://doi.org/10.1016/S0890-6238(03)00034-0)

- Jalal, N., Surendranath, A. R., Pathak, J. L., Yu, S., & Chung, C. Y. (2018). Bisphenol A (BPA) the mighty and the mutagenic. *Toxicology Reports*, 5(December 2017), 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.12.013>
- Jukic, A. M., Calafat, A. M., Robert McConnaughey, D., Longnecker, M. P., Hoppin, J. A., Weinberg, C. R., Wilcox, A. J., & Baird, D. D. (2016). 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), 321–328. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408164>
- Kandaraki, E., Chatzigeorgiou, A., Livadas, S., Palioura, E., Economou, F., Koutsilieris, M., Palimeri, S., Panidis, D., & Diamanti-Kandarakis, E. (2011). Endocrine disruptors and Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Elevated serum levels of bisphenol A in women with PCOS. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(3), 480–484. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1658>
- Kang, Y. G., Kim, J. Y., Kim, J., Won, P. J., & Nam, J. H. (2011). Release of bisphenol A from resin composite used to bond orthodontic lingual retainers. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*, 140(6), 779–789. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2011.04.022>
- Kleinsasser, N. H., Wallner, B. C., Harréus, U. A., Kleinjung, T., Folwaczny, M., Hickel, R., Kehe, K., & Reichl, F. X. (2004). Genotoxicity and cytotoxicity of dental materials in human lymphocytes as assessed by the single cell microgel electrophoresis (comet) assay. *Journal of Dentistry*, 32(3), 229–234. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2003.11.002>
- Kloukos, D., Pandis, N., & Eliades, T. (2013). In vivo bisphenol-A release from dental pit and fissure sealants: A systematic review. *Journal of Dentistry*, 41(8), 659–667. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.04.012>
- Komarowska, M. D., Hermanowicz, A., Czyzewska, U., Milewski, R., Matuszczak, E., Milyk, W., & Debek, W. (2015). Serum Bisphenol A Level in Boys with Cryptorchidism: A Step to Male Infertility? *International Journal of Endocrinology*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/973154>
- Lang, I. A., Galloway, T. S., Scarlett, A., Henley, W. E., Depledge, M., Wallace, R. B.,

- & Melzer, D. (2008). Association of Urinary Bisphenol A concentration with medical disorders and laboratory abnormalities in adults. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 300(11), 1303–1310. <https://doi.org/10.1001/jama.300.11.1303>
- Lassen, T. H., Frederiksen, H., Jensen, T. K., Petersen, J. H., Joensen, U. N., Main, K. M., Skakkebaek, N. E., Juul, A., Jørgensen, N., & 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. <https://doi.org/10.1289/ehp.1307309>
- Leprince, J. G., Palin, W. M., Hadis, M. A., Devaux, J., & Leloup, G. (2013). Progress in dimethacrylate-based dental composite technology and curing efficiency. *Dental Materials*, 29(2), 139–156. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.11.005>
- Li, D. K., Zhou, Z., Miao, M., He, Y., Wang, J., Ferber, J., Herrinton, L. J., Gao, E., & Yuan, W. (2011). Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertility and Sterility*, 95(2), 625–630.e4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2010.09.026>
- Markey, C. M., Coombs, M. A., Sonnenschein, C., & Soto, A. M. (2003). Mammalian development in a changing environment: Exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evolution and Development*, 5(1), 67–75. <https://doi.org/10.1046/j.1525-142X.2003.03011.x>
- Marsee, K., Woodruff, T. J., Axelrad, D. A., Calafat, A. M., & Swan, S. H. (2006). Estimated daily phthalate exposures in a population of mothers of male infants exhibiting reduced anogenital distance. *Environmental Health Perspectives*, 114(6), 805–809. <https://doi.org/10.1289/ehp.8663>
- Maserejian, N. N., Trachtenberg, F. L., Hauser, R., McKinlay, S., Shrader, P., Tavares, M., & Bellinger, D. C. (2012). Dental composite restorations and psychosocial function in children. *Pediatrics*, 130(2). <https://doi.org/10.1542/peds.2011-3374>
- Matuszczak, E., Komarowska, M. D., Debek, W., & Hermanowicz, A. (2019). The Impact of Bisphenol A on Fertility, Reproductive System, and Development: A Review of the Literature. *International Journal of Endocrinology*, 2019, 6–8.

<https://doi.org/10.1155/2019/4068717>

- Meeker, J. D., Yang, T., Ye, X., Calafat, A. M., & Hauser, R. (2011). Urinary concentrations of parabens and serum hormone levels, semen quality parameters, and sperm DNA damage. *Environmental Health Perspectives*, 119(2), 252–257. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002238>
- Melzer, D., Rice, N. E., Lewis, C., Henley, W. E., & Galloway, T. S. (2010). Association of urinary bisphenol A concentration with heart disease: Evidence from NHANES 2003/06. *PLoS ONE*, 5(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008673>
- Miao, M., Yuan, W., He, Y., Zhou, Z., Wang, J., Gao, E., Li, G., & Li, D. K. (2011). In utero exposure to bisphenol-A and anogenital distance of male offspring. *Birth Defects Research Part A - Clinical and Molecular Teratology*, 91(10), 867–872. <https://doi.org/10.1002/bdra.22845>
- Miao, M., Yuan, W., Zhu, G., He, X., & Li, D. K. (2011). In utero exposure to bisphenol-A and its effect on birth weight of offspring. *Reproductive Toxicology*, 32(1), 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.03.002>
- Midoro-Horiuti, T., Tiwari, R., Watson, C. S., & Goldblum, R. M. (2010). Maternal bisphenol a exposure promotes the development of experimental asthma in mouse pups. *Environmental Health Perspectives*, 118(2), 273–277. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901259>
- Moilanen, L. H., Dahms, J. K., & Hoberman, A. M. (2013). Reproductive toxicity evaluation of the dental resin monomer bisphenol a glycidyl methacrylate (CAS 1565-94-2) in Mice. *International Journal of Toxicology*, 32(6), 415–425. <https://doi.org/10.1177/1091581813511995>
- Mok-Lin, E., Ehrlich, S., Williams, P. L., Petrozza, J., Wright, D. L., Calafat, A. M., Ye, X., & Hauser, R. (2010). Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *International Journal of Andrology*, 33(2), 385–393. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2009.01014.x>
- Nakamura, D., Yanagiba, Y., Duan, Z., Ito, Y., Okamura, A., Asaeda, N., Tagawa, Y.,

- Li, C. M., Taya, K., Zhang, S. Y., Naito, H., Ramdhan, D. H., Kamijima, M., & Nakajima, T. (2010). Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicology Letters*, 194(1–2), 16–25. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.02.002>
- National Toxicology Program (NTP). (2015). OHAT risk of bias rating tool for human and animal studies. *Office of Health Assessment and Translation (OHAT)*. Available from: <http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/hat/noms/index-2.html>.
- Peutzfeldt, A. (1997). Resin composites in dentistry: The monomer systems. *European Journal of Oral Sciences*, 105(2), 97–116. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1997.tb00188.x>
- Qi, S., Fu, W., Wang, C., Liu, C., Quan, C., Kourouma, A., Yan, M., Yu, T., Duan, P., & Yang, K. (2014). BPA-induced apoptosis of rat Sertoli cells through Fas/FasL and JNKs/p38 MAPK pathways. *Reproductive Toxicology*, 50, 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.10.013>
- Richter, C. A., Birnbaum, L. S., Farabollini, F., Newbold, R. R., Rubin, B. S., Talsness, C. E., Vandenbergh, J. G., Walser-Kuntz, D. R., & vom Saal, F. S. (2007). In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive Toxicology*, 24(2), 199–224. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.06.004>
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology*, 42, 132–155. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
- Rodríguez, H. A., Santambrosio, N., Santamaría, C. G., Muñoz-de-Toro, M., & Luque, E. H. (2010). Neonatal exposure to bisphenol A reduces the pool of primordial follicles in the rat ovary. *Reproductive Toxicology*, 30(4), 550–557. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2010.07.008>
- Santangeli, S., Maradonna, F., Olivotto, I., Piccinetti, C. C., Gioacchini, G., & Carnevali, O. (2017). Effects of BPA on female reproductive function: The involvement of epigenetic mechanism. *General and Comparative Endocrinology*, 245, 122–126. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.08.010>

- Schwengberg, S., Bohlen, H., Kleinsasser, N., Kehe, K., Seiss, M., Walther, U. I., Hickel, R., & Reichl, F. X. (2005). In vitro embryotoxicity assessment with dental restorative materials. *Journal of Dentistry*, 33(1), 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.08.001>
- Shankar, A., & Teppala, S. (2011). Relationship between urinary bisphenol A levels and diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(12), 3822–3826. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-1682>
- Shankar, A., & Teppala, S. (2012). Urinary bisphenol A and hypertension in a multiethnic sample of US adults. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/481641>
- Shankar, A., Teppala, S., & Sabanayagam, C. (2012). Urinary Bisphenol A Levels and Measures of Obesity: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2008. *ISRN Endocrinology*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2012/965243>
- Silver, M. K., O'Neill, M. S., Sowers, M. F. R., & Park, S. K. (2011). Urinary Bisphenol a and type-2 diabetes in U.S. Adults: Data from NHANES 2003-2008. *PLoS ONE*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026868>
- Söderholm, K. J., & Mariotti, A. (1999). BIS-GMA-based resins in dentistry: Are they safe? *Journal of the American Dental Association*, 130(2), 201–209. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1999.0169>
- Spanier, A. J., Kahn, R. S., Kunselman, A. R., Hornung, R., Xu, Y., Calafat, A. M., & Lanphear, B. P. (2012). Prenatal exposure to bisphenol A and child wheeze from birth to 3 years of age. *Environmental Health Perspectives*, 120(6), 916–920. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104175>
- Srivastava, S., & Dhagga, N. (2019). Dose exposure of Bisphenol- A on female Wistar rats fertility. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 38(2), 1–11. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2018-0061>
- Sugiura-Ogasawara, M., Ozaki, Y., Sonta, S. I., Makino, T., & Suzumori, K. (2005). Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Human*

- Reproduction*, 20(8), 2325–2329. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh888>
- Tomza-Marciniak, A., Stępkowska, P., Kuba, J., & Pilarczyk, B. (2018). Effect of bisphenol A on reproductive processes: A review of in vitro, in vivo and epidemiological studies. *Journal of Applied Toxicology*, 38(1), 51–80. <https://doi.org/10.1002/jat.3480>
- Trasande, L., Attina, T. M., & Blustein, J. (2012). Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 308(11), 1113–1121. <https://doi.org/10.1001/2012.jama.11461>
- Van Landuyt, K. L., Nawrot, T., Geebelen, B., De Munck, J., Snauwaert, J., Yoshihara, K., Scheers, H., Godderis, L., Hoet, P., & Van Meerbeek, B. (2011). How much do resin-based dental materials release? A meta-analytical approach. *Dental Materials*, 27(8), 723–747. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.05.001>
- Van Landuyt, Kirsten L., Snauwaert, J., De Munck, J., Peumans, M., Yoshida, Y., Poitevin, A., Coutinho, E., Suzuki, K., Lambrechts, P., & Van Meerbeek, B. (2007). Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*, 28(26), 3757–3785. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2007.04.044>
- Vandenberg, L. N., Chahoud, I., Heindel, J. J., Padmanabhan, V., Paumgarten, F. J. R., & Schoenfelder, G. (2010). Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*, 118(8), 1055–1070. <https://doi.org/10.1289/ehp.0901716>
- Vasconcelos e Cruz, J., Brito, J., Polido, M., & Gonçalves, L. L. (2019). A new experimental adhesive system containing G-IEMA–physicochemical properties. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 33(4), 418–432. <https://doi.org/10.1080/01694243.2018.1539154>
- Wang, C., Fu, W., Quan, C., Yan, M., Liu, C., Qi, S., & Yang, K. (2014). The Role of Pten/Akt Signaling Pathway Involved in BPA-Induced Apoptosis of Rat Sertoli Cells. *Environmental Toxicology*, 1–10.

- Yu, B., Liu, F., & He, J. (2014). Preparation of low shrinkage methacrylate-based resin system without Bisphenol A structure by using a synthesized dendritic macromer (G-IEMA). *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 35, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2014.03.012>
- Zhou, W., Fang, F., Zhu, W., Chen, Z. J., Du, Y., & Zhang, J. (2017). Bisphenol A and Ovarian reserve among infertile women with polycystic Ovarian syndrome. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(1), 6–12. <https://doi.org/10.3390/ijerph14010018>