

Ana Isabel de la Cruz de las Vecillas

**EXPOSICIÓN DIETÉTICA A BPA, BPS Y BPF Y PARÁMETROS DE
CALIDAD ESPERMÁTICA**

TRABAJO FINAL DE GRADO

dirigido por la Dra. María Ángeles Martínez Rodríguez

Grado de Nutrición Humana y Dietética



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Reus

2023

RESUMEN

El descenso de la salud reproductiva masculina y el aumento de la infertilidad en los últimos 50 años plantea seria preocupación para la reproducción humana. La infertilidad afecta a un 15% aproximadamente de la población a nivel mundial, de los cuales el hombre es responsable del 40-50% de los casos. Aunque aún no se conoce la causa, algunos autores apuntan que la exposición ambiental, a ciertas sustancias químicas con actividad endocrina podría estar involucrada. De entre los más de 800 químicos con posible actividad endocrina, la familia de los bisfenoles ocupa un lugar destacado debido a su amplia distribución y a su vía de exposición principal, la dieta. De esta familia de DE, en concreto el BPA, ha sido en los últimos años un motivo de preocupación debido a los efectos adversos sobre la salud observados. Este Trabajo Final de Grado tuvo como objetivo estimar la exposición dietética a bisfenoles de los participantes del estudio Led-Fertyl, y así poder comprobar si la población de estudio tenía una exposición dietética superior o inferior a la recomendada por la EFSA, y estudiar la posible relación entre la exposición dietética a BPA con diversos parámetros de calidad espermática en esta población de estudio. Se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica de estudios que informaran sobre la concentración de bisfenoles en alimentos, el orden de selección de estudios fue según el origen, es decir, se seleccionaron primero aquellos que proporcionaron información sobre productos de Tarragona > Cataluña > España > Países del mediterráneo > Europa > y finalmente Estados Unidos y Asia. Se realizó una estimación de la exposición dietética individual y general de la población de estudio, mediante el uso de un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos que se realizó a cada uno de los participantes. Se estimó una exposición a BPA de 6,74 ng/kg pc/día ($\pm 41,57$ DS), a BPS de 0,06 ng/kg pc/día ($\pm 0,39$ DS) y a BPF de 0,06 ng/kg pc/día ($\pm 0,36$ DS). La exposición a BPA se encontraba por encima de los niveles recomendados por la EFSA (0,2 ng/kg pc/día), sin embargo, la exposición a BPS y BPF no se pudieron comparar con valores de referencia debido a la no existencia de estos. Por lo que se refiere a la exposición a BPA y los parámetros de calidad espermática, tan solo se observó relación positiva significativa con la motilidad no progresiva, el resto de los parámetros espermáticos no mostraron relación significativa, pero fueron en línea de lo esperado, se observó que una exposición dietética a BPA elevada supuso menor motilidad progresiva, mayor número de inmóviles, menor motilidad total, menor número de espermatozoides, mayor cabeza anormal y menor volumen seminal.

La dificultad para encontrar estudios que determinen las concentraciones de bisfenoles en alimentos, supone que los niveles de exposición estimados deban tomarse con cautela, pues en el caso de BPS y BPF el número de estudios sobre su presencia en alimentos es muy reducido.

Además, la escasez de estudios que determinen las consecuencias que tiene para la salud humana una exposición a este grupo de disruptores endocrinos hace difícil establecer unos valores de exposición de referencia por parte de las autoridades. Por último, se necesitan nuevos estudios que determinen la presencia de bisfenoles en alimentos, junto con nuevos estudios de biomonitorización en humanos con el fin de poder investigar de manera más exhaustiva su exposición a través de la ingesta dietética y sus posibles efectos sobre la salud reproductiva masculina.

PALABRAS CLAVE: disruptores endocrinos, ingesta dietética, bisfenol A, bisfenol S, bisfenol F, reproducción masculina, calidad espermática.

INTRODUCCIÓN

La Organización mundial de la salud (OMS) y el Programa Internacional de Seguridad Química definen un disruptor endocrino (DE) como una sustancia natural o sintética, o la mezcla de ellas que interfieren en la actividad normal del sistema endocrino causando efectos nocivos para un organismo sano e incluso su descendencia (1).

De entre los más de 800 químicos con posible actividad endocrina (1), la familia de los bisfenoles (BP por sus siglas en inglés) ocupa un lugar destacado debido a su amplia distribución. Están presentes en el medio ambiente, la cadena trófica, los materiales en contacto con alimentos, los productos de cuidado personal, los cosméticos, los electrodomésticos, etc (2). Los BP son compuestos orgánicos que están formados por dos anillos fenólicos, y según el puente de unión entre estos anillos y el grupo funcional podemos obtener bisfenol A o BPA (de la unión de dos anillos fenólicos con una molécula de acetona), bisfenol S o BPS (de la unión de dos anillos fenólicos con un grupo sulfona), bisfenol F o BPF (de la unión de dos anillos fenólicos con un grupo metileno) entre otros. Este grupo de DE, en concreto el BPA, ha sido en los últimos años un motivo de preocupación debido a los efectos adversos sobre la salud observados (3).

El BPA fue sintetizado por primera vez en 1891, pero fue en 1938 cuando Dodds y Lawson descubrieron sus propiedades estrogénicas. Desde 1940 ha sido utilizado como monómero en la fabricación de plásticos como el policarbonato (PC), un plástico duro y resistente, así como en la fabricación de otros materiales plásticos destinados a estar en contacto con alimentos como botellas de agua, envases de almacenamiento, utensilios de cocina, biberones, tanques de agua, etc. Además, se utiliza como aditivo en las resinas epoxi, estas las encontramos en el recubrimiento de las latas de conserva y de bebidas (3).

En 1992 se descubrió que el BPA era capaz de migrar de los envases a los alimentos (4). La migración de las moléculas se produce del lugar donde se encuentran en mayor concentración al lugar de menor concentración. Los factores que influyen en la migración del BPA son: el tiempo de almacenamiento; la temperatura, a temperaturas elevadas (ej. la esterilización), la tasa de migración aumenta; las propiedades químicas de los alimentos como el pH o el contenido en lípidos (el BPA libre es ligeramente lipofílico); el grosor y densidad de reticulación de los revestimientos de las latas; y el daño físico de éstas también podría incrementar la migración (5).

La principal vía de exposición humana a BPA es la vía oral a través de la dieta, la cual supone más del 90% de la exposición total. Siendo la vía dérmica, en concreto el contacto con papel térmico (ej. tickets de compra), la segunda fuente de exposición más importante que junto con el resto de las vías de exposición suponen menos del 5% de la exposición total (3). La exposición a BPA se puede biomonitorizar, y la mejor matriz biológica para llevarlo a cabo es la orina. Estudios epidemiológicos recientes han revelado la presencia detectable de BPA en orina en más del 90% de la población occidental (6–11). En cuanto a los análogos, BPS y BPF también han sido detectados en muestras de orina en estudios realizados en humanos (12–15).

El BPA es un químico no persistente (16), con una vida media de eliminación inferior a 6 horas. En humanos tras ser ingerido de manera involuntaria vía oral debido a su presencia en la dieta, el BPA se absorbe casi al 100% en el tracto gastrointestinal y posteriormente en el hígado es conjugado a BPA-glucurónido (BPA-G) o sulfatado (BPA-S). El BPA conjugado es soluble en agua, tiene una actividad endocrina inferior a la del BPA no conjugado o libre y se excreta por la orina durante las próximas 24 horas tras la ingesta (3,17–21). El BPA libre permanece en la sangre y representa aproximadamente un 12% del BPA total (11). Para asegurar una correcta estimación de la exposición a BPA, se recomienda la recolección de la orina de 24 horas, en lugar de una muestra única (22). No obstante, estudios epidemiológicos y de biomonitorización cuantifican la concentración total de BPA, es decir, la suma del BPA conjugado y el libre, para una estimación más completa de la exposición (11).

La absorción y el metabolismo de los análogos BPS y BPF, son similares a las del BPA, con la única diferencia de que ambos, BPS y BPF, tras ser conjugados en el hígado se excretan a la bilis, esto supone una recirculación enterohepática y un proceso de eliminación del organismo más largo. En el caso del BPS la excreción total se produce durante 2 días, mientras que en el caso del BPF, estudios animales han mostrado cantidades considerable de sus metabolitos, principalmente en el hígado, tras 96 horas de haber realizado una ingesta con BPF (23,24).

Actualmente se relaciona el BPA con diferentes efectos sobre la salud (4), en concreto hay estudios en humanos y en animales que lo relacionan principalmente con la infertilidad tanto masculina como femenina (25–28); con trastornos metabólicos como la obesidad y la diabetes tipo 2 (29–32); y con alteraciones del neurodesarrollo, como la ansiedad (33–35).

Uno de los trastornos más prevalentes y en aumento en los últimos 50 años ha sido la infertilidad masculina (6,36). En la actualidad, la infertilidad afecta a un 15% de la población mundial aproximadamente, siendo el factor masculino responsable del 40-50% de los casos (37). El descenso de la salud reproductiva masculina en los últimos años plantea serias preocupaciones para la reproducción humana (38). Estudios en humanos y ratas sugieren que tanto el BPA como sus análogos, BPS y BPF, son tóxicos para la reproducción y la calidad espermática (39,40).

La principal consecuencia de una exposición a BPA es una producción deficiente de hormonas reproductivas. El BPA actúa sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónada en la liberación de la hormona liberadora de gonadotropina, interfiriendo en la producción de hormonas esteroides sexuales como la testosterona y el estradiol (39). La alteración de la arquitectura y la función de los testículos supone parámetros espermáticos anormales de motilidad, concentración y anomalías genéticas (41–43).

La legislación para el BPA ha ido variando al cabo de los años, a medida que se han ido estudiando sus posibles efectos sobre la salud de los humanos y los animales. El Comité Científico de la Alimentación (SCF por sus siglas en inglés) examinó por primera vez en 1984 el BPA en su uso en materiales en contacto con alimentos y estableció una Ingesta Diaria Tolerable (IDT) de 0,05 mg/kg peso corporal (pc)/día. En 2002 el SCF revisó la información disponible sobre el BPA hasta 2001 y estableció un IDT temporal (IDT-t) de 0,01 mg/kg pc/día. En 2006 la IDT-t cambió a 0,05 mg/kg pc/día tras conocerse las diferencias toxicocinéticas entre ratones y humanos (44). En 2015 la Comisión Técnica de Materiales en Contacto con Alimentos, Enzimas y Auxiliares Tecnológicos (CEP) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA por sus siglas en inglés) llevó a cabo una revisión de todos los estudios y los datos publicados entre 2006 y 2013. Tras la cual estableció una nueva IDT-t de 4 µg/kg pc/día.(45) Finalmente, en abril de 2023, tras la reevaluación de los riesgos que supone el BPA para la salud pública, la EFSA publicó el nuevo valor de la IDT de 0,2 ng/kg pc/día, es decir, veinte mil veces inferior al anterior establecido (46).

Tras conocer los efectos del BPA sobre la salud países como Canadá (2009), Estados Unidos (2010) y finalmente la Unión Europea (2011) prohibieron el uso de este químico en la fabricación de biberones a base de PC para bebés (47). Tal y como determina el Reglamento (UE) 609/2013

del Parlamento Europeo y del Consejo queda prohibido su utilización en la fabricación de vajilla o utensilios de PC destinados a lactantes y población infantil, así como tampoco está permitido su uso en la fabricación de barnices o recubrimientos en contacto con alimentos para lactantes y niños/as de corta edad. Francia, sin embargo, prohibió el uso de BPA en cualquier envase de comida o bebida en 2015 (47).

El Reglamento (UE) 2018/213 de la Comisión del 12 de febrero de 2018 sobre el uso de bisfenol A en los barnices y revestimientos destinados a entrar en contacto con los alimentos establece un Límite de Migración Específico (LME) de 0,05 mg BPA/kg de alimento con el fin de garantizar que la exposición tanto dietética como no dietética sea inferior al IDT-t de 4 µg/kg pc/día.

La Sociedad de la Industria de Plásticos desarrolló unos códigos de identificación que sirven para clasificar los envases según su composición y características, el código que indica que el envase contiene BPA es el 7. Este en concreto incluye plásticos como el PC, además de otras resinas y materiales.

Como respuesta a la preocupación pública, las continuas reducciones de la IDT y la legislación cada vez más exigente sobre el uso del BPA, las industrias que se dedican a la fabricación de PC y resinas epoxi, destinadas a entrar en contacto con los alimentos, han optado por utilizar sustancias análogas con una estructura química similar a la del BPA. En total son 16 los análogos documentados con aplicaciones en la industria. De los cuáles, el BPS y el BPF son los principales sustitutos (12).

Tan solo existe regulación para el BPS, el cual está autorizado bajo el Reglamento (UE) No 10/2011 para su uso como monómero en plásticos en contacto con alimentos con un LME de 0,05 mg/kg de alimento.

En el caso de BPF, no existe legislación reguladora que indique un valor de referencia para la exposición dietética, así como tampoco un valor de LME, esto se debe a la escasez de estudios que demuestre cuáles son los efectos de BPF para la salud de los humanos.

Actualmente, a pesar de ser pocos los estudios que han investigado los efectos de estos químicos para la salud humana, de manera conjunta señalan que estos químicos tendrían acción disruptora endocrina similar e incluso superior a la del BPA (9,30,48).

La gran falta de estudios sobre una de las familias químicas más ampliamente distribuidas como son los bisfenoles y su relación con la calidad espermática, los cambios en la legislación sobre los valores de ingesta máximos tolerables y la gran disparidad entre las metodologías empleadas a la hora de determinar estos químicos, dificulta el poder sacar conclusiones sobre los posibles

efectos nocivos de estos DE sobre la fertilidad masculina. Por ello, en este estudio nos hemos centrado en evaluar la exposición de una población de hombres sanos procedentes del proyecto Led-Fertyl mediante una de las fuentes más importantes de exposición para el ser humano, la dieta, observando su posible relación con los parámetros de calidad espermática (motilidad no progresiva, motilidad progresiva, motilidad total, inmóviles, número de espermatozoides, cabeza anormal y volumen seminal).

El objetivo principal de este trabajo es estimar la exposición dietética a bisfenoles de los participantes del estudio Led-Fertyl, dónde se pretende comprobar, por un lado, si la población de estudio se encuentra por encima o debajo de la ingesta diaria tolerable establecida recientemente por la EFSA. Y, por otro lado, estudiar la posible relación entre la exposición dietética al BPA con diversos parámetros de calidad espermática en esta población de estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

1.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para llevar a cabo nuestro trabajo se utilizaron los datos de los participantes del estudio observacional Led-Fertyl (*Lifestyle and enviromental determinantes of seminogramas and other male fertiliy related parameters*) PI/2101447, un proyecto de investigación en curso liderado por la Unidad de Nutrición Humana de la Universidad Rovira i Virgili. Este estudio actualmente se encuentra en fase de reclutamiento. La población de estudio son hombres sanos de entre 18 y 40 años. En concreto para la realización de este Trabajo Final de Grado se ha considerado una población total de 157 varones, en su mayoría provenientes de Reus, Tarragona (España). Para poder participar en el estudio Led-Fertyl los participantes voluntarios han de cumplir una serie de criterios de inclusión (ANEXO 1) entre los que se encuentran: tener entre 18 y 40 años, haber firmado el consentimiento informado para la participación en el estudio y para la recolección de muestras biológicas, no padecer ninguna de las patologías descritas y estar dado de alta en el sistema de salud pública. Como requisito para la recogida de la muestra de semen se pide una abstinencia sexual de mínimo 3-7 días. En caso de no cumplir con alguno de los criterios anteriormente descritos, no serán incluidos en el estudio. Este trabajo está cubierto por el Comité Ético del proyecto Ref. CEIM: 181/2019.

1.2. CUESTIONARIOS Y RECOLECCIÓN DE DATOS

Al inicio del estudio se realizó un Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (CFCA) validado (49) con 133 alimentos de diferentes categorías: lácteos y derivados, huevos, carne y productos cárnicos, pescado y marisco, frutos secos, legumbres, frutas, verduras y zumos,

cereales y derivados, grasas y aceites, bollería, *fast food* y *snacks*, y bebidas. El consumo de agua también se tuvo en cuenta según si era agua embotellada, agua del grifo o de otro tipo. Así mismo se realizaron cuestionarios para conocer factores que pueden estar relacionados con la fertilidad masculina (ANEXO 2) tales como el estado civil, el nivel educativo, la etnicidad, la situación laboral actual, el Índice de Masa Corporal (IMC), la profesión, el hábito tabáquico, el salario mensual y adherencia a la dieta mediterránea.

1.3. EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A BISFENOLES

Este trabajo se centra en la evaluación de la exposición a BPA, BPS y BPF a través de la dieta. Para ello se realizó una búsqueda bibliográfica de los estudios más actuales sobre las concentraciones de bisfenoles en alimentos, tanto enlatados como no enlatados, utilizando PubMed como base de datos de acceso libre y especializada en ciencias de la salud. Los términos utilizados fueron “endocrine disruptors” or “bisphenols” or “bisphenol a” or “BPA” or “bisphenol analogues” or “bisphenol s” or “BPS” or “bisphenol f” or “BPF” AND “food” or “diet” or “dietary exposure assessment” or “food dietary intake” or “foodstuff levels” or “canned food”. Se incluyeron artículos publicados desde 2011 hasta mayo de 2023. Como criterio de selección primero se seleccionaron los datos procedentes de estudios realizados en Tarragona > Cataluña > España > Países del mediterráneo > Europa > y finalmente Estados Unidos y Asia.

Para calcular la concentración media de bisfenoles de los diferentes grupos de alimentos se convirtieron los valores encontrados a una misma unidad de medida: µg/kg o L de alimento. Se calculó la concentración media de BPA, BPS y BPF para cada grupo de alimentos (ANEXO 3: Tabla 1, Tabla 2 y Tabla 3). Posteriormente se calculó de la ingesta dietética y la exposición individual de cada participante siguiendo las fórmulas de la Ecuación 1 y 2 (Ec 1; Ec 2) respectivamente.

$$\text{Ingesta dietética} = (\text{CBP} \times \text{Ct}) \quad (\text{Ec 1})$$

Donde CBP se refiere a la concentración de BPA, BPS o BPF en cada grupo de alimentos en µg/g o L de alimento y Ct a los gramos totales consumidos por grupo de alimento en g o L/día.

$$\text{Exposición diaria} = \left(\frac{\sum(\text{CBP} \times \text{Ct})}{\text{pc}} \right) \times 1000 \quad (\text{Ec 2})$$

Donde pc corresponde al peso corporal en kg. Finalmente, la exposición diaria se expresa en ng/kg pc/día.

Por último, se calculó la exposición media del total de participantes y se comparó con la IDT de BPA de la EFSA de 0,2 ng/kg pc/día.

1.4. ESTIMACIÓN DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA

Para la estimación estadística de la calidad espermática se utilizó el programa informático Stata 14 (StataCorp). El umbral de significación estadística para los resultados se fijó en $p < 0,05$. Se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros espermáticos: la motilidad progresiva (%), es decir, si su movimiento es serpenteante o rectilíneo; la motilidad no progresiva (%), si el movimiento es circular; el número de espermatozoides inmóviles (%), la motilidad total (progresiva + no progresiva) (%), el número de espermatozoides ($\times 10^6$) (M/muestra), la cabeza anormal (%), es decir, cabeza no ovalada; y el volumen seminal (ml).

Para el análisis estadístico se llevaron a cabo regresiones lineales simples ($Y=a+bX$), con el fin de determinar la magnitud y la dirección de la relación entre nuestra variable independiente: “la exposición a bisfenoles”, y la variable dependiente: “los valores de los diferentes parámetros de calidad espermática”. Además, se tuvieron en cuenta las posibles variables confusoras de abstinencia, tabaquismo, índice de masa corporal (IMC), actividad física, estado civil, etnicidad, consumo de *fast food* y la adherencia a la dieta mediterránea total (a través del cuestionario p14).

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Participaron un total de 157 hombres de edades comprendidas entre 18 y 40 años, (ANEXO 2) de los cuales el 78,8% eran hispanos. El 59,6% presentaba un peso saludable, mientras que el 42,3% presentaba sobrepeso u obesidad. El 75% estaban solteros en el momento del estudio. El 37,2% tenía estudios universitarios, el 72,9% trabajaba en aquel momento, siendo los puestos de trabajo más frecuentes el sector secundario (22,6%), el terciario (22,6%) y el ámbito de la investigación, el desarrollo y la innovación (I+D+i) (21,9%), con un salario de entre 1000-2000€ mensuales en el 66% de los casos. El 10,3% de la población fumaba y la frecuencia de consumo de *fast food* predominante fue en el rango de 1-3 veces al mes en el 44,2% de los participantes.

2.1. BPA, BPS y BPF en alimentos

Tras la búsqueda bibliográfica de los estudios más actuales que determinasen las concentraciones de BP en alimentos, calculamos la concentración media de BPA, BPS y BPF para cada grupo de alimentos (ANEXO 4). Aquellos que presentaron niveles más elevados de BPA fueron en primer lugar el pescado y el marisco, seguidos de las legumbres, las frutas, verduras y zumos, la carne y los productos cárnicos.

Los niveles elevados de BPA en los alimentos de origen animal anteriormente mencionados y el *fast food* vienen determinados en gran parte por las características químicas del BPA. El BPA posee una capacidad de bioacumulación moderada (50–52), debido a su carácter lipófilico y

adipogénico, es decir, tiene afinidad a las grasas y además se ha visto que es capaz de inducir una mayor acumulación de lípidos en las células adipocíticas, por ello los alimentos que tienen mayor cantidad de lípidos presentan una mayor concentración de BPA (30,53). En cuanto a los niveles elevados en legumbres, frutas y verduras, esto se debe principalmente al formato de consumo del producto, es decir, si está o no enlatado, pues el interior de las latas está recubierto con resinas epoxi, las cuales contienen BPA. Los valores de la concentración de BPA en alimentos encontrados en la bibliografía proceden de estudios que han utilizado alimentos tanto enlatados como no enlatados. Sin embargo, a la hora de presentar los resultados, la mayoría de estos estudios no hacen distinción entre los niveles procedentes de productos enlatados de los no enlatados. Por este motivo en nuestro trabajo se ha considerado en conjunto el consumo procedente de alimentos enlatados y no enlatados. Otro motivo por el cuál las legumbres, las frutas y las verduras presentan niveles de BPA elevados es la contaminación de las aguas de regadío (50,51,54,55). El hecho de que estos alimentos hayan presentado mayores niveles de BPA no es indicador de que deban dejar de consumirse, lo que se debe hacer es optar por aquellos alimentos que no vienen envasados, es decir, optar por alimentos a granel. Así como reemplazar los tupperware o cantimploras de plástico duro por aquellos que son de cristal.

Las concentraciones de BPS y BPF encontradas en los diferentes alimentos se representan en los ANEXOS 3 y 4. Los alimentos que presentaron mayor concentración de BPS fueron la carne y los productos cárnicos, junto con el pescado y el marisco. Por lo que se refiere al BPF los grupos que presentaron mayores niveles fueron el *fast food* y los snacks, seguido de las grasas y aceites, y la leche y derivados.

Los estudios que cuantifican los niveles de BPS y BPF en alimentos son escasos. Tan solo unos pocos han sido hasta el momento, según nuestros conocimientos, los únicos estudios científicos que ha cuantificado los niveles de BPS y BPF en diferentes alimentos (56–59). A pesar de ello, hay alimentos de los que no se conoce aún la concentración de estas sustancias puesto que no hay estudios que los hayan analizado o, si lo han hecho, los niveles se encontraban por debajo de los límites de detección. Es por ello por lo que nuestra estimación de la exposición dietética a BPS y BPF puede estar infraestimada.

La escasa evaluación de los niveles de bisfenoles en alimentos es un hecho de gran relevancia debido al uso en aumento de BPS y BPF por parte de la industria como sustitutos del BPA. Se necesitan más estudios actuales que evalúen los niveles de BPA, BPS y BPF en los alimentos tanto enlatados como no enlatados.

2.2. Exposición dietética a BPA, BPS y BPF

Para determinar la exposición dietética a BPA, BPS y BPF de la población de estudio Led-Fertyl primero calculamos la ingesta (Ec 1) y la exposición (Ec 2) dietéticas individuales de cada participante y posteriormente realizamos una media de todas las exposiciones. Se obtuvo una exposición dietética media a BPA de 6,74 ng/kg pc/día ($\pm 41,57$ DS), valor que se encuentra por encima de la IDT de la EFSA (0,2 ng/kg pc/día). Esto se debe a que más de la mitad de la población de estudio (65,6%), presentaban valores de exposición considerablemente altos, mientras que el 34,4% restante, mostraron niveles inferiores al recomendado por la EFSA. En el ANEXO 5 podemos observar el porcentaje en que los diferentes grupos de alimentos contribuyeron a la exposición de BPA.

La mayoría de los estudios determinan la exposición a BPA a través de la biomonitorización de muestras biológicas como la orina, la sangre e incluso el semen (60,61). Esto puede suponer una infraestimación de la exposición dado que tanto en orina como en sangre el principal metabolito que se encuentra es el BPA-G, por tanto, el BPA libre que permanece en sangre no se tendría en cuenta (20). Así mismo, los niveles presentes en orina son representativos de las ingestas realizadas durante las 24 horas previas a la extracción de muestras, por lo que se estimaría la exposición a corto plazo (62–64). La dieta es la principal vía de exposición humana a BPA, en concreto, representa más del 90% de la exposición total (3), es por este motivo que el uso de un CFCA validado es una herramienta útil y sencilla de realizar por nutricionistas entrenados que permite llevar a cabo una primera estimación de la exposición dietética de los participantes a largo plazo (49). Además, un CFCA es una herramienta adaptada a la alimentación de la población de estudio, no altera los hábitos alimenticios de los participantes, no es invasiva, lo que supone una posible ventaja a la hora de reclutar participantes y no requiere de una preparación previa a la extracción de muestras biológicas por parte del individuo. Un estudio observó concordancia entre los valores de exposición estimados a partir de un CFCA y los niveles encontrados en orina (65). No obstante, la biomonitorización a través de orina y sangre es un método complementario que permite realizar una estimación más exacta de la exposición total a estos químicos.

Por lo que se refiere al consumo alimentario de nuestra población de estudio, los grupos de alimentos que se consumieron en mayor cantidad (g/día), como se puede observar en la Figura 4, fueron en primer lugar los huevos, seguidos de las bebidas, los cereales, la leche y derivados, la verdura, la fruta y los zumos, la carne y los productos cárnicos, el pescado y el marisco, las legumbres, los frutos secos, el *fast food* y los *snacks*, las grasas y los aceites, la bollería y el agua embotellada.

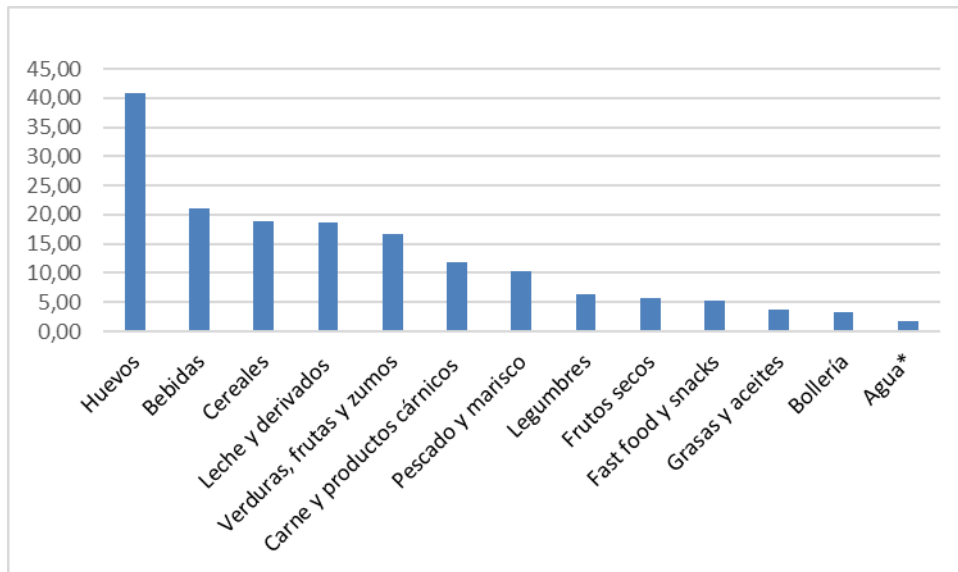


FIGURA 4: Media de consumo diario por grupo de alimentos (g/día) en la población de estudio Led-Fertyl.

*Agua en L/día

La Figura 5 muestra la magnitud en que los diferentes grupos de alimentos contribuyeron a la ingesta de BPA. Para ello se tuvo en cuenta la ingesta media total de la población de estudio para cada grupo de alimentos y la concentración de BPA en dichos alimentos ($\mu\text{g BPA/día}$). Aquellos que contribuyeron a niveles de ingesta más elevados fueron en primer lugar la verdura, la fruta y los zumos, seguidos del pescado y el marisco, la carne y los productos cárnicos, las legumbres y el *fast food* y los snacks, esto se debe a que fueron los que mayor concentración de BPA presentaron, y a pesar de no ser los más consumidos continuaron siendo los que contribuyeron a una mayor exposición a este químico.

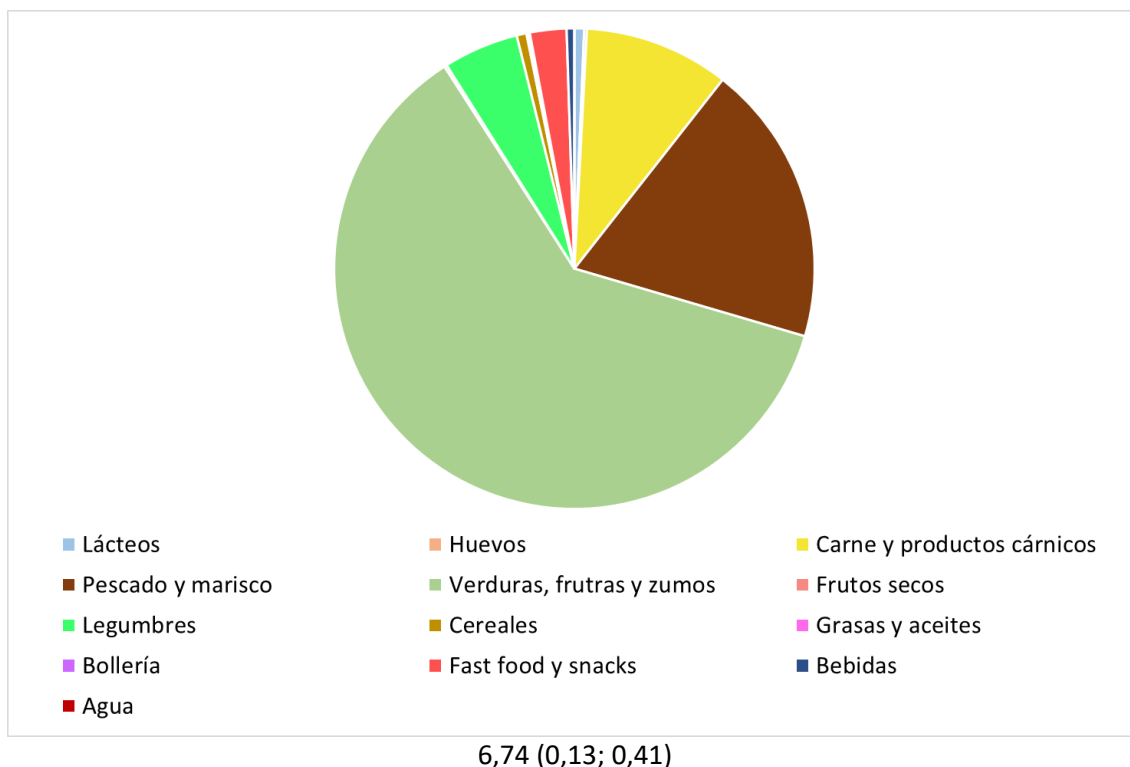


FIGURA 5: Exposición dietética media de BPA ($\mu\text{g}/\text{día}$) de los participantes del estudio Led-Fertyl. Los valores de exposición se expresan como media (P5; P95)

Son pocos los estudios que han estimado, al igual que nosotros, la exposición dietética a BPA en población adulta mediante un CFCA. Sin embargo, aquellos que sí lo han hecho encontraron valores de exposición dietética semejantes o superiores a los nuestros. En Cataluña (España) se estimó una exposición a BPA de 370 ng/kg pc/día y 50 ng/kg pc/día en dietas que se basaron en comida enlatada y no enlatada respectivamente (66). En Bélgica, se estimó una ingesta dietética de 1050 y 15 ng/kg pc/día a través de comida y bebida enlatada respectivamente (67). En Estados Unidos, se llevaron a cabo 2 estudios diferentes en años consecutivos y se obtuvieron valores de exposición dietética de 44,6 ng/kg pc/día y 12,6 ng/kg pc/día, respectivamente (57,68). En Noruega, se estimó una exposición de 5 ng/kg pc/día (69).

Otros estudios llevaron a cabo la estimación de la exposición dietética en función de los niveles de BPA encontrados en orina. Los valores de exposición estimados fueron de 34 ng/kg pc/día y 31,07 ng/kg pc/día, respectivamente (60,61). Un estudio en concreto observó que la ingesta dietética fue significativamente superior en hombres que en mujeres y a medida que aumentaba la edad la exposición dietética a BPA disminuía significativamente (61).

En lo referente a la exposición dietética estimada para BPS y BPF obtuvimos valores de 0,06 ($\pm 0,39$ DS) y 0,06 ($\pm 0,36$ DS) ng/kg pc/día respectivamente. Las Figuras 6 y 7 (ANEXO 5) muestran la proporción en que los diferentes grupos de alimentos contribuyeron a la exposición de estos

químicos. Nuestros valores de exposición son bastante inferiores en comparación con los valores de otros estudios realizados en Estados Unidos, donde se determinó una exposición dietética para BPS y BPF de 1,31 ng/kg pc/día y 7,46 ng/kg pc/día respectivamente (57). En China, se obtuvieron valores de exposición a BPS de 26,15 ng/kg pc/día y 22,2 ng/kg pc/día respectivamente, mientras que la exposición a BPF fue de 29,92 ng BPF/kg pc/día y 0,485 ng/kg pc/día respectivamente (70,71). Un estudio llevó a cabo la estimación de la exposición dietética a BPS a través de los niveles encontrados en orina obteniendo un valor medio de 7,37 ng/kg pc/día (61).

Los valores de exposición dietética a BPS y BPF estimados para la población de estudio Led-Fertyl no los podemos comparar con valores de IDT de referencia, pues hoy día no existen, esto se debe a la escasa información disponible sobre los efectos de estos químicos en la salud de los humanos. La evidencia científica disponible de estudios realizados en humanos y en animales sobre los efectos de BPS y BPF en la salud indica que ambos presentan características reproductivas, toxicológicas, metabólicas y carcinogénicas similares a BPA (48,72–75). En estudios in vitro han mostrado tener una mayor capacidad adipogénica y obesogénica que BPA, incluso los autores destacan que el BPS resultó tener una capacidad disruptora endocrina superior a BPA y BPF (9,30). La similitud de la estructura química de estos análogos a la del BPA podría ser el motivo por el cual BPS y BPF presentan efectos para la salud parecidos a los del BPA (76).

La ausencia de una legislación que regule el uso de los análogos de BPA sumada a la preocupación social en aumento, las continuas restricciones sobre el uso de BPA y la evidencia disponible sobre los efectos perjudiciales para la salud de dicha sustancia, supone un uso cada vez mayor y sin control de estos químicos (12). Dicha ausencia de reglamentos se debe, en gran parte, a la escasa evidencia científica disponible hoy día, así como a los intereses económicos por parte de la industria del plástico (77).

2.3. Relación de la exposición a BPA y los parámetros de calidad espermática.

La Tabla 6 muestra los resultados obtenidos tras el análisis estadístico, en el cual la variable independiente considerada fue la exposición al BPA y las variables dependientes fueron los parámetros de calidad espermática: motilidad progresiva, motilidad no progresiva, inmóviles, motilidad total, número de espermatozoides, cabeza anormal, y volumen seminal.

| Parámetro espermático | B-coeficiente | Std. Err. | P-valor |
|--|---------------|-----------|--------------|
| Motilidad progresiva (%) | -0.510 | 0.038 | 0,174 |
| Motilidad no progresiva (%) | 0.370 | 0.014 | 0,013 |
| Inmóviles (%) | 0.032 | 0.035 | 0,361 |
| Motilidad total (%) | -0.135 | 0.036 | 0,712 |
| Número de espermatozoides($\times 10^6$) | -0.020 | 0.030 | 0,924 |
| Cabeza anormal (%) | 0.030 | 0.029 | 0,302 |
| Volumen seminal (ml) | -0.050 | 0.030 | 0,134 |

TABLA 6: Exposición al BPA y parámetros espermáticos.

Como se puede observar en la Tabla 6 una elevada exposición a BPA se relacionó de manera significativa con una motilidad no progresiva mayor (β -coeficiente = 0.370; p-valor = 0,013). No se observaron más relaciones significativas. Sin embargo, el resto de los parámetros fueron en línea de lo esperado. Se obtuvo menor motilidad progresiva; mayor número de inmóviles; menor motilidad total; menor número de espermatozoides; mayor cabeza anormal y menor volumen seminal. Estos resultados los deberíamos de tratar como preliminares, dado que nuestra población de estudio es reducida $n=157$, necesitaríamos aumentar nuestra población para conseguir mejorar la potencia estadística.

El presente estudio es, según nuestro conocimiento, el primero en determinar la relación entre la exposición dietética a BPA estimada a través de la frecuencia de consumo de alimentos de los participantes y los parámetros de calidad espermática (motilidad, morfología anormal y volumen seminal).

La evidencia científica disponible sobre estudios en humanos es escasa y además existe controversia entre los hallazgos encontrados. Sin embargo, el número de estudios realizados en animales es mayor (78–80). Gran parte de los estudios publicados hasta la actualidad han establecido relaciones entre los niveles urinarios de BPA y diferentes parámetros de calidad espermática. Una revisión sistemática y metaanálisis determinó, por un lado, asociaciones positivas, aunque no significativas, para el recuento de espermatozoides y el volumen seminal, y por otro lado, asociaciones inversas no significativas para la morfología y la motilidad espermática (7,11,41,81,82). Otros autores que por el contrario, analizaron las concentraciones de BPA en plasma y líquido seminal observaron una disminución de la concentración y recuento de espermatozoides a exposiciones elevadas de BPA (27,83).

En lo referente a estudios en animales se observó una disminución significativa de la motilidad a dosis bajas de BPA, así como una disminución del recuento de los espermatozoides y un

aumento de la morfología anormal y del estrés oxidativo en ratones adultos a dosis altas de BPA. a dosis bajas de BPA en ratones adultos (78–80).

A pesar de no haber llevado a cabo un análisis estadístico entre la exposición a BPS y BPF y los parámetros de calidad espermática, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre los efectos de estas sustancias químicas en la reproducción masculina. La evidencia científica disponible hoy día se basa en estudios *in vitro*. Un estudio demostró que una exposición a los análogos de BPA en humanos supuso una reducción de la calidad espermática (76). Al igual que sucede con la exposición a BPA, el daño causado por BPS y BPF se extendió a todas las etapas de la espermatogénesis (84). Se observó que BPF poseía una actividad estrogénica y anti androgénica, superior a la de BPA, mientras que BPS fue el único que presentó actividad estrogénica inferior a la del BPA (85). Algunos autores han informado que BPS y BPF causaron estrés oxidativo y daño del ADN (72–74). Teniendo en cuenta los hallazgos realizados hasta la actualidad, aunque aún es necesario llevar a cabo un mayor número de investigaciones sobre los efectos para la salud de estos análogos, deberían tomarse como referencia los efectos adversos ya observados para desarrollar leyes que regulen el uso de estas sustancias, así como llevar a cabo una revisión de la legislación vigente.

3. CONCLUSIÓN

Los valores de exposición estimados en base a la frecuencia de consumo de alimentos de los participantes fueron de 6,74 ng BPA/kg pc/día ($\pm 41,57$ DS), 0,06 ng BPS/kg pc/día ($\pm 0,39$ DS) y 0,06 ng BPF/kg pc/día ($\pm 0,36$ DS). La exposición dietética a BPA de nuestra población de estudio fue similar a la de estudios que estimaron la exposición de la misma manera que nosotros, mediante un QFCA. Todos ellos se encuentran por encima de los valores de ingesta diaria tolerable recomendada por la EFSA (0,2 ng/kg pc/día). Por el contrario, la exposición a BPS y BPF se encontraba por debajo de la exposición estimada por estudios anteriores al nuestro. A pesar de que el tamaño muestral era pequeño, se pudo establecer tras el análisis estadístico, una relación positiva significativa entre una ingesta elevada de BPA y una mayor motilidad no progresiva. El resto de los parámetros espermáticos no mostraron significación estadística, pero fueron en línea de lo esperado (menor motilidad progresiva, mayor número de inmóviles, menor motilidad total, menor número de espermatozoides, mayor cabeza anormal y menor volumen seminal). No se llevó a cabo el estudio estadístico de BPS y BPF, pero la evidencia científica disponible indica que estos análogos tienen efectos perjudiciales para la salud en general y en concreto para la fertilidad masculina iguales e incluso superiores a los del BPA. La escasa disponibilidad de estudios que cuantifiquen los niveles de BP en alimentos, el número reducido

de estudios que determinen los efectos de estos químicos para la salud reproductiva masculina y la salud pública en general, sumado al uso en aumento de los análogos del BPA por parte de la industria del plástico y de los fabricantes de resinas epoxi en respuesta a las restricciones gubernamentales sobre el uso de BPA, y la necesidad de revisión de las leyes vigentes, destaca la necesidad de nuevos estudios que determinen los efectos de la exposición a BP para la salud. Se requieren procedimientos exhaustivos para cuantificar y biomonitorizar los niveles de estas sustancias en los alimentos y en los humanos, y guíen a las autoridades competentes a desarrollar leyes que protejan a la población del uso indebido e injustificado de todo tipo de sustancias disruptoras endocrinas.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012 [Internet]. [cited 2023 May 15]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241505031>
2. Stukenborg JB, Mitchell RT, Söder O. Endocrine disruptors and the male reproductive system. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2021 Sep [cited 2023 May 15];35(5):101567. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34426080>
3. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Goeyens L, Lecomte P, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and Chemical Toxicology* [Internet]. 2012 Oct [cited 2023 May 15];50(10):3725–40. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691512005376>
4. Demeneix B, National dHistoire Naturelle M, Slama R, Investigator S, National Institute of Health I, Research M, et al. *Endocrine Disruptors: from Scientific Evidence to Human Health Protection Policy* Department for Citizens' Rights and Constitutional Affairs.
5. Wang X, Nag R, Brunton NP, Siddique MAB, Harrison SM, Monahan FJ, et al. A probabilistic approach to model bisphenol A (BPA) migration from packaging to meat products. *Science of the Total Environment*. 2023 Jan 1;854.
6. Castellini C, Totaro M, Parisi A, D'Andrea S, Lucente L, Cordeschi G, et al. Bisphenol A and Male Fertility: Myths and Realities. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2020 Jun 12 [cited 2023 May 15];11:353. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32595601>

7. 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.* 2018 Feb 1;161:122–8.
8. 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.
9. Reina-Pérez I, Olivas-Martínez A, Mustieles V, Ruiz-Ojeda FJ, Molina-Molina JM, Olea N, et al. Bisphenol F and bisphenol S promote lipid accumulation and adipogenesis in human adipose-derived stem cells. *Food and Chemical Toxicology.* 2021 Jun 1;152.
10. González N, Marquès M, Cunha SC, Fernandes JO, Domingo JL, Nadal M. Biomonitoring of co-exposure to bisphenols by consumers of canned foodstuffs. *Environ Int.* 2020 Jul 1;140.
11. Goldstone AE, Chen Z, Perry MJ, Kannan K, Louis GMB. Urinary bisphenol A and semen quality, the LIFE study. *Reproductive Toxicology.* 2015 Jan 1;51:7–13.
12. Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng YL, Wu Y, et al. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity - A Review. *Environ Sci Technol.* 2016 Jun 7;50(11):5438–53.
13. Liao C, Liu F, Alomirah H, Loi VD, Mohd MA, Moon HB, et al. Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: Occurrence and human exposures. *Environ Sci Technol.* 2012 Jun 19;46(12):6860–6.
14. Yang Y, Guan J, Yin J, Shao B, Li H. Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China. *Chemosphere.* 2014;112:481–6.
15. Asimakopoulos AG, Xue J, De Carvalho BP, Iyer A, Abualnaja KO, Yaghmoor SS, et al. Urinary biomarkers of exposure to 57 xenobiotics and its association with oxidative stress in a population in Jeddah, Saudi Arabia. *Environ Res.* 2016 Oct 1;150:573–81.
16. Angerer J, Ewers U, Wilhelm M. Human biomonitoring: State of the art. *Int J Hyg Environ Health.* 2007 May 22;210(3–4):201–28.
17. Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the food chain [CONTAM] related to ochratoxin A in food. *EFSA Journal [Internet].* 2006 Jun 1 [cited 2023 May 15];4(6). Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/365>

18. Doerge DR, Twaddle NC, Vanlandingham M, Fisher JW. Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult Sprague-Dawley rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010 Sep 1;247(2):158–65.
19. Doerge DR, Twaddle NC, Woodling KA, Fisher JW. Pharmacokinetics of bisphenol A in neonatal and adult rhesus monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010 Oct;248(1):1–11.
20. Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol*. 2002 Oct 1;15(10):1281–7.
21. Völkel W V., Bittner N, Dekant W. Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*. 2005 Nov;33(11):1748–57.
22. LaKind JS, Naiman DQ. Bisphenol A (BPA) daily intakes in the United States: Estimates from the 2003-2004 NHANES urinary BPA data. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2008 Nov;18(6):608–15.
23. FitzGerald R, Loveren H Van, Civitella C, Castoldi AF, Bernasconi G. Assessment of new information on Bisphenol S (BPS) submitted in response to the Decision 1 under REACH Regulation (EC) No 1907/2006. *EFSA Supporting Publications*. 2020 Apr 16;17(4).
24. Cabaton N, Chagnon MC, Lhuguenot JC, Cravedi JP, Zalko D. Disposition and metabolic profiling of bisphenol F in pregnant and nonpregnant rats. *J Agric Food Chem*. 2006 Dec 27;54(26):10307–14.
25. Tomza-Marciniak A, Stępkowska P, Kuba J, Pilarczyk B. Effect of bisphenol A on reproductive processes: A review of in vitro, in vivo and epidemiological studies. *Journal of Applied Toxicology*. 2018 Jan 1;38(1):51–80.
26. 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.
27. 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*. 2015;64:S303–11.
28. Caserta D, Ciardo F, Bordi G, Guerranti C, Fanello E, Perra G, et al. Correlation of endocrine disrupting chemicals serum levels and white blood cells gene expression of

- nuclear receptors in a population of infertile women. *Int J Endocrinol* [Internet]. 2013 [cited 2023 May 15];2013:510703. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23710174>
29. Rönn M, Lind L, Örberg J, Kullberg J, Söderberg S, Larsson A, et al. Bisphenol A is related to circulating levels of adiponectin, leptin and ghrelin, but not to fat mass or fat distribution in humans. *Chemosphere*. 2014;112:42–8.
 30. Martínez M, Blanco J, Rovira J, Kumar V, Domingo JL, Schuhmacher M. Bisphenol A analogues (BPS and BPF) present a greater obesogenic capacity in 3T3-L1 cell line. *Food and Chemical Toxicology*. 2020 Jun 1;140.
 31. Hu J, Yang S, Wang Y, Goswami R, Peng C, Gao R, et al. Serum bisphenol A and progression of type 2 diabetic nephropathy: a 6-year prospective study. *Acta Diabetol*. 2015 Dec 1;52(6):1135–41.
 32. Sun Q, Cornelis MC, Townsend MK, Tobias DK, Heather Eliassen A, Franke AA, et al. Association of urinary concentrations of bisphenol A and phthalate metabolites with risk of type 2 diabetes: A prospective investigation in the nurses' health study (NHS) and NHSII cohorts. *Environ Health Perspect*. 2014;122(6):616–23.
 33. Fan Y, Tian C, Liu Q, Zhen X, Zhang H, Zhou L, et al. Preconception paternal bisphenol A exposure induces sex-specific anxiety and depression behaviors in adult rats. *PLoS One*. 2018 Feb 1;13(2).
 34. Liang Y, Li J, Jin T, Gu T, Zhu Q, Hu Y, et al. Bisphenol-A inhibits improvement of testosterone in anxiety- and depression-like behaviors in gonadectomied male mice. *Horm Behav*. 2018 Jun 1;102:129–38.
 35. Xu X, Dong F, Yang Y, Wang Y, Wang R, Shen X. Sex-specific effects of long-term exposure to bisphenol-A on anxiety- and depression-like behaviors in adult mice. *Chemosphere*. 2015 Feb 1;120:258–66.
 36. Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the U.S. population to Bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect*. 2008 Jan;116(1):39–44.
 37. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018 Dec 1;62:2–10.

38. Levine H, Jørgensen N, Martino-Andrade A, Mendiola J, Weksler-Derri D, Mindlis I, et al. Temporal trends in sperm count: A systematic review and meta-regression analysis. *Hum Reprod Update*. 2017 Nov 1;23(6):646–59.
39. Santoro A, Chianese R, Troisi J, Richards S, Nori SL, Fasano S, et al. Neuro-toxic and Reproductive Effects of BPA. *Curr Neuropharmacol*. 2019 Jul 30;17(12):1109–32.
40. Chen MY, Ike M, Fujita M. Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. *Environ Toxicol*. 2002;17(1):80–6.
41. 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. *Reproductive Toxicology*. 2010 Dec;30(4):532–9.
42. Rahman MS, Kwon WS, Lee JS, Yoon SJ, Ryu BY, Pang MG. Bisphenol-A Affects Male Fertility via Fertility-related Proteins in Spermatozoa. *Sci Rep*. 2015 Mar 16;5.
43. Li J, Mao R, Zhou Q, Ding L, Tao J, Ran MM, et al. Exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of ERK signal pathway. *Toxicol Mech Methods*. 2016 Mar 23;26(3):180–8.
44. Scientific Opinion on Bisphenol A: evaluation of a study investigating its neurodevelopmental toxicity, review of recent scientific literature on its toxicity and advice on the Danish risk assessment of Bisphenol A. *EFSA Journal*. 2010 Sep 1;8(9).
45. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*. 2015 Jan 1;13(1).
46. Lambré C, Barat Baviera JM, Bolognesi C, Chesson A, Cocconcelli PS, Crebelli R, et al. Re-evaluation of the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal* [Internet]. 2023 Apr [cited 2023 May 15];21(4). Available from: <http://doi.wiley.com/10.2903/j.efsa.2023.6857>
47. Cano-Nicolau J, Vaillant C, Pellegrini E, Charlier TD, Kah O, Coumailleau P. Estrogenic Effects of Several BPA Analogs in the Developing Zebrafish Brain. *Front Neurosci* [Internet]. 2016 Mar 24 [cited 2023 May 15];10(MAR):112. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27047331>
48. Andújar N, Gálvez-Ontiveros Y, Zafra-Gómez A, Rodrigo L, Álvarez-Cubero MJ, Aguilera M, et al. Bisphenol A analogues in food and their hormonal and obesogenic effects: A review. *Nutrients*. 2019 Sep 1;11(9).

49. Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *British Journal of Nutrition*. 2010 Jun;103(12):1808–16.
50. Corrales J, Kristofco LA, Baylor Steele W, Yates BS, Breed CS, Spencer Williams E, et al. Global assessment of bisphenol a in the environment: Review and analysis of its occurrence and bioaccumulation. *Dose-Response*. 2015 Jul 1;13(3).
51. Staples CA, Dorn PB, Klecka GM, O’Block ST, Harris LR. A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*. 1998 Apr;36(10):2149–73.
52. Heinonen J, Honkanen J, Kukkonen JVK, Holopainen IJ. Bisphenol A accumulation in the freshwater clam *Pisidium amnicum* at low temperatures. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2002;43(1):50–5.
53. Veiga-Lopez A, Pu Y, Gingrich J, Padmanabhan V. Obesogenic Endocrine Disrupting Chemicals: Identifying Knowledge Gaps. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2018 Sep 1;29(9):607–25.
54. Cousins I, Staples C, ... GKH and E, 2002 undefined. A multimedia assessment of the environmental fate of bisphenol A. Taylor & Francis [Internet]. 2002 [cited 2023 May 15];8(5):1107–35. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1080-700291905846>
55. Klečka GM, Staples CA, Clark KE, Van Der Hoeven N, Thomas DE, Hentges SG. Exposure analysis of bisphenol A in surface water systems in North America and Europe. *Environ Sci Technol*. 2009 Aug 15;43(16):6145–50.
56. Gallart-Ayala H, Moyano E, Galceran MT. Analysis of bisphenols in soft drinks by on-line solid phase extraction fast liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* [Internet]. 2011 Jan 10 [cited 2023 May 17];683(2):227–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21167975>
57. Liao C, Kannan K. Concentrations and profiles of bisphenol a and other bisphenol analogues in foodstuffs from the united states and their implications for human exposure. *J Agric Food Chem*. 2013 May 15;61(19):4655–62.
58. Alabi A, Caballero-Casero N, Rubio S. Quick and simple sample treatment for multiresidue analysis of bisphenols, bisphenol diglycidyl ethers and their derivatives in canned food prior to liquid chromatography and fluorescence detection. *J Chromatogr A* [Internet].

- 2014 Apr 4 [cited 2023 May 17];1336:23–33. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24594089/>
59. Santonicola S, Albrizio S, Ferrante MC, Mercogliano R. Study on bisphenol F, a bisphenol A analogue, at a dairy company: Health hazard and risk assessment. *Food and Chemical Toxicology*. 2021 Aug 1;154.
 60. Lakind JS, Naiman DQ. Daily intake of bisphenol A and potential sources of exposure: 2005-2006 National Health and Nutrition Examination Survey. *J Expo Sci Environ Epidemiol* [Internet]. 2011 [cited 2023 May 15];21(3):272–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20237498>
 61. Wang H, Gao R, Liang W, Wei S, Zhou Y, Zeng F. Assessment of BPA and BPS exposure in the general population in Guangzhou, China - Estimation of daily intakes based on urinary metabolites. *Environmental Pollution*. 2022 Dec 15;315.
 62. Arakawa C, Fujimaki K, Yoshinaga J, Imai H, Serizawa S, Shiraishi H. Daily urinary excretion of bisphenol A. *Environ Health Prev Med* [Internet]. 2004 Jan [cited 2023 May 15];9(1):22–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21432334>
 63. Dekant W, Völkel W. Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: Methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008 Apr 1;228(1):114–34.
 64. Mahalingaiah S, Meeker JD, Pearson KR, Calafat AM, Ye X, Petrozza J, et al. Temporal variability and predictors of urinary bisphenol A concentrations in men and women. *Environ Health Perspect*. 2008 Feb;116(2):173–8.
 65. Karrer C, Andreassen M, von Goetz N, Sonnet F, Sakhi AK, Hungerbühler K, et al. The EuroMix human biomonitoring study: Source-to-dose modeling of cumulative and aggregate exposure for the bisphenols BPA, BPS, and BPF and comparison with measured urinary levels. *Environ Int*. 2020 Mar 1;136.
 66. González N, Cunha SC, Ferreira R, Fernandes JO, Marquès M, Nadal M, et al. Concentrations of nine bisphenol analogues in food purchased from Catalonia (Spain): Comparison of canned and non-canned foodstuffs. *Food and Chemical Toxicology*. 2020 Feb 1;136.

67. Geens T, Apelbaum TZ, Goeyens L, Neels H, Covaci A. Intake of bisphenol A from canned beverages and foods on the Belgian market. *Food Additives and Contaminants - Part A*. 2010;27(11):1627–37.
68. Lorber M, Schecter A, Paepke O, Shropshire W, Christensen K, Birnbaum L. Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environ Int*. 2015 Apr 1;77:55–62.
69. Sakhi AK, Lillegaard ITL, Voorspoels S, Carlsen MH, Løken EB, Brantsæter AL, et al. Concentrations of phthalates and bisphenol A in Norwegian foods and beverages and estimated dietary exposure in adults. *Environ Int*. 2014;73:259–69.
70. Yao K, Zhang J, Yin J, Zhao Y, Shen J, Jiang H, et al. Bisphenol A and Its Analogues in Chinese Total Diets: Contaminated Levels and Risk Assessment. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020.
71. Zhang J, Yao K, Yin J, Lyu B, Zhao Y, Li J, et al. Exposure to Bisphenolic Analogues in the Sixth Total Diet Study - China, 2016-2019. *China CDC Wkly* [Internet]. 2022 Mar 4 [cited 2023 May 15];4(9):180–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35356407>
72. Rosenmai AK, Dybdahl M, Pedersen M, van Vugt-Lussenburg BMA, Wedebye EB, Taxvig C, et al. Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives? *Toxicological Sciences*. 2014 May 1;139(1):35–47.
73. Roelofs MJE, Berg M van den, Bovee TFH, Piersma AH, Duursen MBM van. Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology*. 2015 Mar 2;329:10–20.
74. Wu LH, Zhang XM, Wang F, Gao CJ, Chen D, Palumbo JR, et al. Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review. *Science of the Total Environment*. 2018 Feb 15;615:87–98.
75. Pelch K, Wignall JA, Goldstone AE, Ross PK, Blain RB, Shapiro AJ, et al. A scoping review of the health and toxicological activity of bisphenol A (BPA) structural analogues and functional alternatives. *Toxicology*. 2019 Aug 1;424.
76. Siracusa JS, Yin L, Measel E, Liang S, Yu X. Effects of bisphenol A and its analogs on reproductive health: A mini review. *Reproductive Toxicology*. 2018 Aug 1;79:96–123.
77. PlasticsEurope. Plásticos-Situación en 2020.

78. Wang HF, Liu M, Li N, Luo T, Zheng LP, Zeng XH. Bisphenol a impairs mature sperm functions by a CatSper-relevant mechanism. *Toxicological Sciences*. 2016 Jul 1;152(1):145–54.
79. Liu XX, Wang ZX, Liu FJ. Chronic exposure of BPA impairs male germ cell proliferation and induces lower sperm quality in male mice. *Chemosphere*. 2021 Jan 1;262.
80. Park B, Kwon JE, Cho SM, Kim CW, Lee DE, Koo YT, et al. Protective effect of *Lespedeza cuneata* ethanol extract on Bisphenol A-induced testicular dysfunction in vivo and in vitro. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018 Jun 1;102:76–85.
81. Martínez MÁ, Marquès M, Salas-Huetos A, Babio N, Domingo JL, Salas-Salvadó J. Lack of association between endocrine disrupting chemicals and male fertility: A systematic review and meta-analysis. *Environ Res*. 2023 Jan 15;217.
82. 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 Periconceptional Exposures (HOPE) cohort. *Reproductive Toxicology*. 2019 Dec 1;90:82–7.
83. 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*. 2016 Apr 1;89–90:166–73.
84. Shi M, Sekulovski N, MacLean JA, Hayashi K. Effects of bisphenol A analogues on reproductive functions in mice. *Reproductive Toxicology*. 2017 Oct 1;73:280–91.
85. van Leeuwen SP, Bovee TF, Awchi M, Klijnstra MD, Hamers AR, Hoogenboom RL, et al. BPA, BADGE and analogues: A new multi-analyte LC-ESI-MS/MS method for their determination and their in vitro (anti)estrogenic and (anti)androgenic properties. *Chemosphere*. 2019 Apr 1;221:246–53.
86. Santonicola S, Ferrante MC, Murru N, Gallo P, Mercogliano R. Hot topic: Bisphenol A in cow milk and dietary exposure at the farm level. *J Dairy Sci*. 2019 Feb 1;102(2):1007–13.
87. Cao XL, Perez-Locas C, Robichaud A, Clement G, Popovic S, Dufresne G, et al. Levels and temporal trend of bisphenol A in composite food samples from Canadian Total Diet Study 2008–2012. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2015 Dec 2;32(12):2154–60.

88. Cao XL, Kosarac I, Popovic S, Zhou S, Smith D, Dabeka R. LC-MS/MS analysis of bisphenol S and five other bisphenols in total diet food samples. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2019 Nov 2;36(11):1740–7.
89. Repositi A, Farabegoli F, Gazzotti T, Zironi E, Pagliuca G. Bisphenol A in Edible Part of Seafood. *Ital J Food Saf [Internet]*. 2016 Apr 19 [cited 2023 May 17];5(2):5666. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27800447>
90. Cunha SC, Cunha C, Ferreira AR, Fernandes JO. Determination of bisphenol A and bisphenol B in canned seafood combining QuEChERS extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 2012 Nov;404(8):2453–63.

ANEXO 1: Criterios de inclusión/exclusión

- Haber firmado conforme que ha recibido la información necesaria sobre el estudio y comprende que la participación es voluntaria pudiendo retirarse en cualquier momento.
- Haber firmado el consentimiento informado general y el específico sobre la recolección de muestras biológicas.
- Tener entre 18 y 40 años.
- Tener un buen estado de salud (sin presencia de patologías destacables).
- Indicar si padece alguna de las siguientes patologías:
 - Incapacidad para seguir las visitas de intervención programadas por falta de autonomía, incapacidad de caminar, etc.
 - Estar institucionalizado en un centro asistencial de manera permanente o por un largo periodo de tiempo.
 - Tener antecedentes de resección del intestino delgado o grueso o enfermedades inflamatorias intestinales como colitis o Crohn.
 - Antecedentes de trasplante de órganos mayores.
 - Tener alguna enfermedad en la historia reproductiva o vasectomía.
 - Tener una historia documentada previa de enfermedad cardiovascular (ECV) como por ejemplo angina de pecho, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, etc.
 - Estar en terapia concurrente con medicamento inmunosupresores o agentes citotóxicos o en tratamiento con corticoesteroides sistémicos.
 - Usar medicamentos asociados con alteraciones de los espermatozoides como los antidepresivos, los bloqueadores de los canales de calcio, los bloqueadores de alfa-adrenérgicos, los antiepilépticos; o antirretrovirales.
 - Haber perdido más de 5 kg en el último mes; tener cirrosis o insuficiencia hepática; padecer enfermedades endocrinas.
 - Ser inmunodeficiente o ser seropositivo o tener hepatitis B/C.
 - Haber sufrido una infección o inflamación aguda.
 - Tener alcoholismo o realizar un abuso de las drogas.
 - Tener un cáncer activo o haberlo tenido en los últimos 5 años.
 - Estar diagnosticado de trastornos psiquiátricos graves.
 - Tener una esperanza de vida inferior a 24 meses por una condición de comorbilidad severa.
 - Tener cualquier afección que pueda interferir en el cumplimiento del protocolo del estudio.
- Estar dado de alta en el sistema de salud pública.

ANEXO 2: Características población de estudio

| CARACTERÍSTICAS | CODIFICACIÓN | FRECUENCIA | % |
|-------------------------------|---|------------|------|
| Estado civil | Soltero | 117 | 75 |
| | Casado | 17 | 10,9 |
| | Divorciado | 2 | 1,3 |
| | Otro | 20 | 12,8 |
| Nivel educativo | Primaria | 21 | 13,5 |
| | Secundaria | 33 | 21,2 |
| | Estudios superiores/ bachillerato | 44 | 28,2 |
| | Universidad | 58 | 37,2 |
| Etnicidad | Hispánica | 123 | 78,8 |
| | Caucásica | 28 | 17,9 |
| | Otra | 5 | 3,2 |
| Situación laboral actual | No activo | 6 | 3,9 |
| | En activo | 113 | 72,9 |
| | Estudiante | 35 | 22,6 |
| | Otro | 1 | 0,6 |
| Índice de Masa Corporal (IMC) | Peso saludable | 93 | 59,6 |
| | Sobrepeso | 52 | 35,3 |
| | Obesidad | 11 | 7,1 |
| Profesión | Sector primario (agricultura, ganadería, minería, apicultura, silvicultura, etc.) | 3 | 2,2 |
| | Sector secundario (actividad artesanal o industrial) | 31 | 22,6 |
| | Sector terciario (servicios) | 31 | 22,6 |
| | Mecánico o trabajador en una gasolinera | 4 | 2,9 |
| | Bombero o cocinero | 2 | 1,5 |
| | Investigación, desarrollo e innovación | 30 | 21,9 |
| | Cultura, educación, arte y entretenimiento | 18 | 13,1 |
| | Sanidad | 18 | 13,1 |
| Tabaquismo | No fuma | 120 | 76,9 |
| | Si fuma | 16 | 10,3 |
| | Fumador pasivo | 1 | 0,6 |
| | Exfumador | 19 | 12,2 |
| Salario mensual | <1000 € | 21 | 13,5 |
| | 1000-2000 € | 103 | 66 |
| | 2000-3500 € | 29 | 18,6 |
| | >3500 € | 3 | 1,9 |
| <i>Fast food</i> | Nunca/casi nunca | 39 | 25 |
| | 1-3 veces al mes | 69 | 44,2 |
| | 1 vez a la semana | 36 | 23,1 |
| | 2-4 veces a la semana | 9 | 5,8 |
| | 5-6 veces a la semana | 2 | 1,3 |
| | 1 vez al día | 1 | 0,6 |

ANEXO 3: Tablas de concentración media de BPs en alimentos y referencias bibliográficas.

| Grupo de alimentos | BPA (µg/kg o L) | Referencias bibliográficas |
|----------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Leche y derivados | 0,42 | (66,69,86,87) |
| Huevos | 0,79 | (57,69,87) |
| Carne y productos cárnicos | 10,42 | (58,66,69,88) |
| Pescado y marisco | 41,05 | (66,69,87,89,90) |
| Frutos secos | 1,33 | (66,88) |
| Legumbres | 35,93 | (58,66,87,88) |
| Frutas, verduras y zumos | 19,31 | (57,58,66,69,87,88) |
| Cereales y derivados | 0,78 | (57,66,69,87) |
| Grasas y aceites | 0,53 | (57,66,69,87) |
| Bollería | 0,47 | (66,87) |
| Fast food y snacks | 7,04 | (69,87,88) |
| Bebidas | 0,29 | (56,57,69,87) |
| Agua embotellada | 0,2 | (45) |

TABLA 1: Concentración media de BPA en alimentos (µg/kg o L)

| Grupo de alimentos | BPS (µg/kg o L) | Referencias bibliográficas |
|----------------------------|------------------------|-----------------------------------|
| Leche y derivados | 0,04 | (57) |
| Huevos | no data | (57) |
| Carne y productos cárnicos | 0,61 | (57) |
| Pescado y marisco | 0,32 | (57) |
| Frutos secos | - | no data |
| Legumbres | - | no data |
| Frutas, verduras y zumos | 0,01 | (57) |
| Cereales y derivados | 0,01 | (57) |
| Grasas y aceites | 0,01 | (57) |
| Bollería | no data | (57) |
| Fast food y snacks | 0,01 | (57) |
| Bebidas | nd | (56,57) |
| Agua embotellada | no data | (57) |

nd = no detectado

TABLA 2: Concentración media de BPS en alimentos (µg/kg o L)

| Grupo de alimentos | BPF ($\mu\text{g}/\text{kg}$ o L) | Referencias bibliográficas |
|----------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| Leche y derivados | 0,20 | (57,59) |
| Huevos | no data | (57) |
| Carne y productos cárnicos | nd | (58) |
| Pescado y marisco | nd | (57,58) |
| Frutos secos | - | no data |
| Legumbres | nd | (58) |
| Frutas, verduras y zumos | nd | (57,58) |
| Cereales y derivados | 0,08 | (57) |
| Grasas y aceites | 0,26 | (57) |
| Bollería | no data | (57) |
| Fast food y snacks | 1,21 | (57) |
| Bebidas | 0,03 | (57) |
| Agua embotellada | no data | (57) |

nd = no detectado

TABLA 3: Concentración media de BPF en alimentos ($\mu\text{g}/\text{kg}$ o L)

ANEXO 4: Contribución de los diferentes alimentos al total de BPA, BPS Y BPF (μg BP/kg o L alimento):

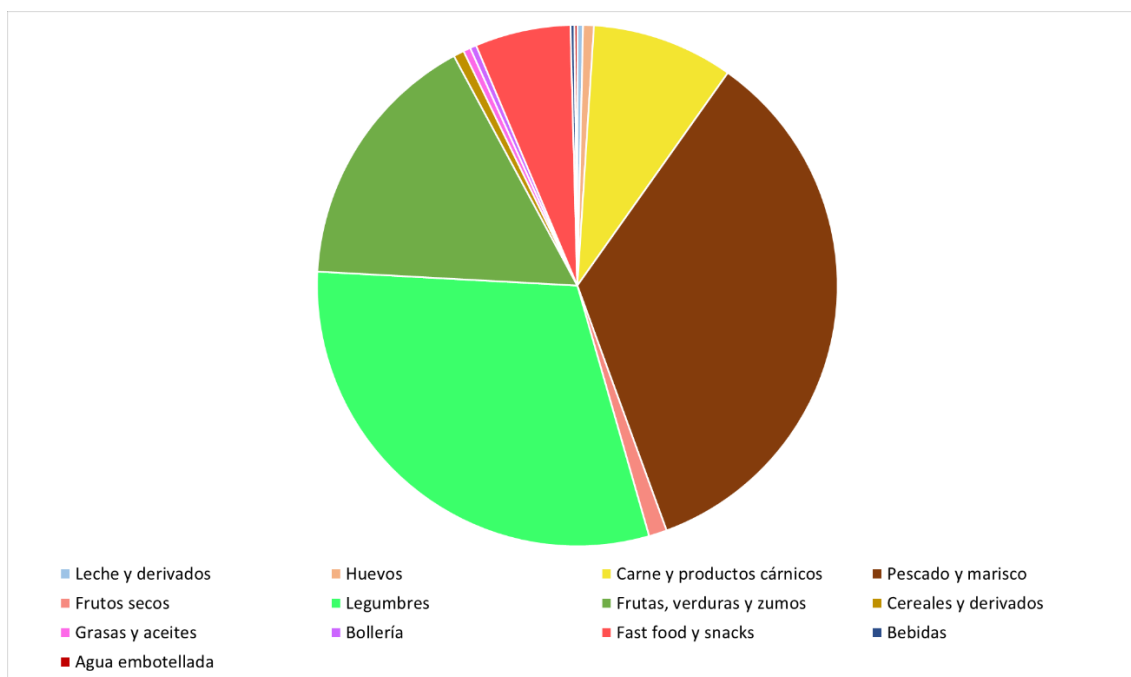


Figura 1: Contribución de los diferentes alimentos al total de BPA (μg BPA/kg o L alimento)

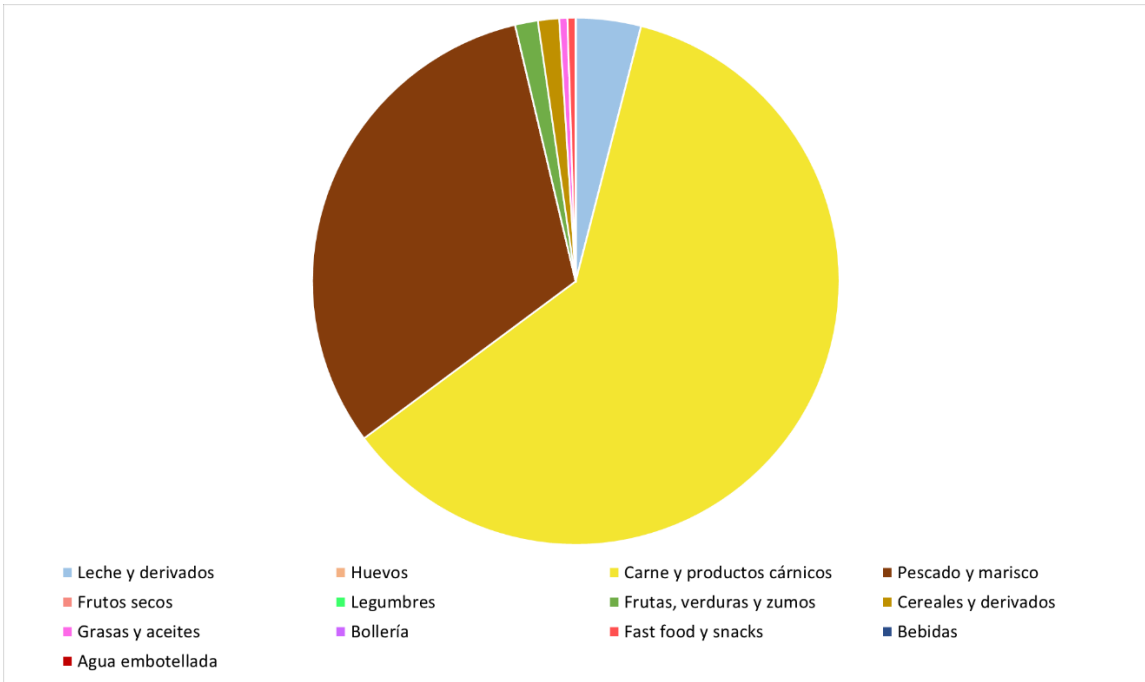


Figura 2: Contribución de los diferentes alimentos al total de BPS (µg BPS/kg o L alimento).

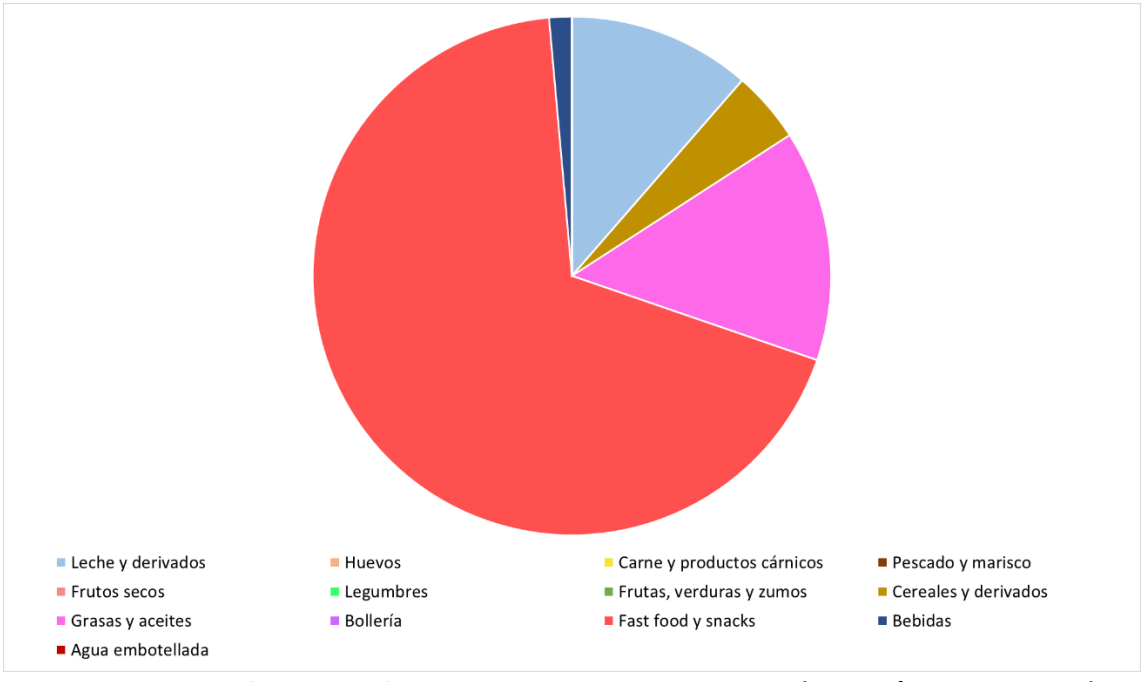
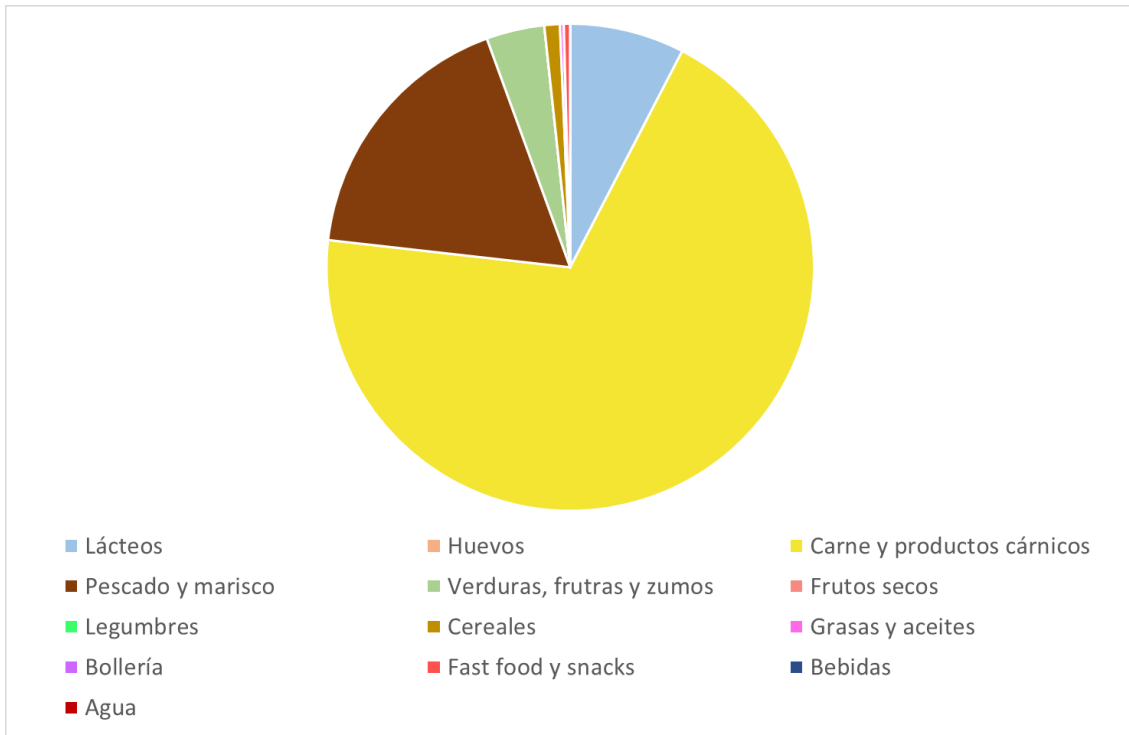


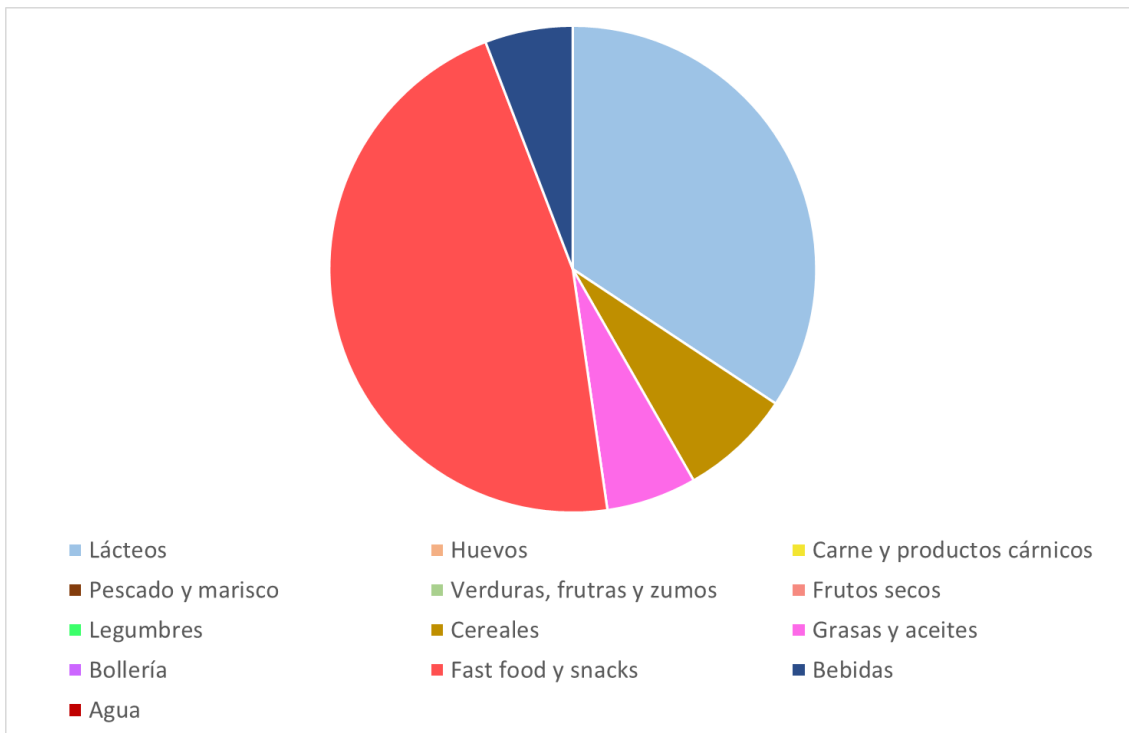
Figura 3: Contribución de los diferentes alimentos al total de BPF (µg BPF/kg o L alimento).

ANEXO 5: Exposición media a BPS y BPF (ng/kg pc/día):



0,06 ($5,58 \times 10^{-4}$; $3,40 \times 10^{-3}$)

Figura 6: Exposición dietética media a BPS (ng/kg pc/día) en la población de estudio Led-Fertyl. Los valores de exposición se expresan como media (P5; P95)



0,06 ($9,81 \times 10^{-4}$; $4,01 \times 10^{-3}$)

Figura 7: Exposición dietética media a BPF (ng/kg pc/día) en la población de estudio Led-Fertyl. Los valores de exposición se expresan como media (P5; P95)