

УДК 577.175.6:612.663

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-1\(35\)-1067-1077](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2024-1(35)-1067-1077)

**Ярошенко Денис Сергійович** аспірант кафедри патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології, Дніпровський державний медичний університет, вул. Вернадського, 9, м. Дніпро, 49044, <https://orcid.org/0000-0001-8359-2766>

## ОЦІНКА ТРИВАЛОГО ВПЛИВУ БІСФЕНОЛУ А НА ГОРМОНАЛЬНИЙ СТАТУС ТА ФЕРТИЛЬНІСТЬ

**Анотація.** Бісфенол А (ВРА) входить до групи хімічних речовин, які найбільш широко використовуються промисловістю для виробництва пластикових виробів. ВРА акумулюється в організмі і є потенційно шкідливим для здоров'я людини, через складні молекулярні механізми порушує гормональний статус і головне - негативно впливає на чоловічу фертильність. Метою роботи було проведення аналізу тривалого впливу бісфенолу А на гормональний статус та фертильність.

Дослідження проведені на 120 щурах самцях лінії Wistar. Рівень тестостерону та  $17\beta$ -естрадіол в сироватці крові визначали з використанням тест-наборів імуноферментного аналізу: Rat Testosterone ELISA Kit та Rat Estrogen ELISA Kit. Фертильність щурів визначали шляхом парування дослідних самців з інтактними самицями. Однією з умов стабільної роботи складної репродуктивної системи є підтримання необхідного рівня гормонального фону. В нашому експерименті ВРА сприяв статистично значущому зниженню концентрації досліджуваних гормонів у сироватці крові щурів експериментальних груп F0-3 і F0-4, які зазнали тривалого впливу ВРА, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). Отже, концентрація тестостерону в сироватці крові щурів групи F0-4, на 120 добу експерименту, знизилась на 63 %, а у групи F0-3 на 49 %. Показники концентрації  $17\beta$ -естрадіолу в сироватці крові щурів груп F0-3 F0-4 знизились відповідно на 51 % та 71 %. У тварин контрольної групи F0-1 і групи порівняння F0-2, які не отримували ВРА, концентрація гормонів відповідала фізіологічній нормі і не зазнала статистично значущих змін. ( $p < 0,05$ ) В ході нашого експерименту спостерігалось поступове зменшення фертильності самців, які зазнали тривалого впливу ВРА. Так, період від 113 до 120 доби дослідження характеризувався зниженням фертильності тварин в групі F0-3 на 30 %,  $p \leq 0,05$  і в групі F0-4 на 40 %,  $p \leq 0,05$ . Натомість в групах F0-1 (контроль) і F0-2 показники фертильності протягом експерименту не мали статистично значущих змін. Отже, наслідком впливу досліджуваної речовини стало суттєве



зменшення фертильності шурів самців експериментальних груп, що отримували ВРА дозою 50 і 250 мг/кг/доба протягом 120 діб, порівняно з інтактними тваринами контрольної групи. Висновки. Деструктивна дія ксеноестрогену ВРА спрямована на складні гормонозалежні процеси сперматогенезу. Аналіз дисфункціональних змін і можливість реалізації репродуктивної функцій в довгостроковій перспективі показує, що ВРА є тестикулярним токсикантом. Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження будуть спрямовані на встановлення складних механізмів впливу ВРА на фертильність потомства при реалізації репродуктивної функції.

**Ключові слова:** бісфенол А, чоловіча фертильність, тестостерон, 17 $\beta$ -естрадіол, ELISA.

**Yaroshenko Denys Serhiiovich** postgraduate student of the Department of Pathological Anatomy, Forensic Medicine and Pathological Physiology, Dnipro State Medical University, 9 Vernadsky St., Dnipro, 49044, <https://orcid.org/0000-0001-8359-2766>

## EVALUATION OF THE LONG-TERM EFFECT OF BISPHENOL A ON HORMONAL STATUS AND FERTILITY

**Abstract.** Bisphenol A (BPA) is one of the chemicals most widely used by industry for the production of plastic products. BPA accumulates in the body and is potentially harmful to human health, disrupts hormonal status through complex molecular mechanisms and, most importantly, negatively affects male fertility. The aim of the study was to analyze the long-term effects of bisphenol A on hormonal status and fertility.

Studies were conducted on 120 male rats of the Wistar line. Serum testosterone and 17 $\beta$ -estradiol levels were determined using enzyme-linked immunosorbent assay tests: Rat Testosterone ELISA Kit and Rat Estrogen ELISA Kit. Rat fertility was determined by mating experimental males with intact females. One of the conditions for the stable operation of a complex reproductive system is to maintain the necessary level of hormonal background. In our experiment, bra contributed to a statistically significant decrease in the concentration of the studied hormones in the blood serum of rats of experimental groups F0-3 and F0-4 who were exposed to long-term exposure to bra compared to the control group ( $p < 0.05$ ). Consequently, the concentration of testosterone in the blood serum of rats of group F0-4, on the 120th day of the experiment, decreased by 63 %, and in group F0-3 by 49 %. serum concentrations of 17 $\beta$ -estradiol in rats of groups F0-3 F0-4 decreased by 51% and 71 %, respectively. In animals of the F0-1 control group and the F0-2 comparison group that did not receive BPA, the hormone concentration corresponded to the physiological norm and did not undergo statistically significant



changes. ( $p < 0.05$ ) during our experiment, there was a gradual decrease in the fertility of males exposed to long-term VRA exposure. Thus, the period from 113 to 120 days of the study was characterized by a decrease in animal fertility in the F0-3 group by 30 %,  $p \leq 0.05$  and in the F0-4 group by 40%,  $p \leq 0.05$ . But in groups F0-1 (control) and F0-2, fertility indicators during the experiment did not have statistically significant changes, so the effect of the test substance was a significant decrease in fertile male rats of the experimental groups that received BPA at a dose of 50 and 250 mg/kg/day for 120 days compared to intact animals of the control group. Conclusions. The destructive effect of xenoestrogen BPA is aimed at complex hormone-dependent processes of spermatogenesis. Analysis of dysfunctional changes and the possibility of realizing reproductive functions in the long term shows that BPA is a testicular toxicant prospects for further research. Further research will be aimed at establishing complex mechanisms of the influence of BPA on the fertility of offspring in the implementation of reproductive function.

**Keywords:** bisphenol A, male fertility, testosterone,  $17\beta$ -estradiol, ELISA.

**Постановка проблеми.** В подружніх парах, що страждають на безпліддя, патологія за чоловічим фактором становить 30–50 %. Знижена фертильність може бути наслідком різних факторів: хвороби сім'яників, ендокринопатії, вроджені аномалії статевої системи, вплив гонадотоксичних речовин тощо [1, 2]. Дослідження на тваринних моделях та клінічні спостереження доводять, що ендокринно активні речовини є серйозною проблемою репродуктивної функції чоловіків. Речовини, які впливають на ендокринну систему представляють широкий клас хімічних сполук – ендокринні дизраптори, такі як сільськогосподарські пестициди, промислові хімікати, пластмаси, пластифікатори та багато інших хімічних сполук, які широко використовуються світовою промисловістю. Європейська Комісія та Агентство охорони навколишнього середовища США (EPA) визначили хімічні сполуки, що можуть втручатися в гормональну систему, негативно впливати на сперматогенез, порушувати процеси розвитку та розмноження людини, як ендокринні руйнівники до яких включено бісфенол А (BPA) [3, 4].

BPA входить до групи хімічних речовин, які найбільш широко використовуються промисловістю для виробництва пластикових виробів. BPA акумулюється в організмі і є потенційно шкідливим для здоров'я людини, через складні молекулярні механізми порушує гормональний статус і головне - негативно впливає на чоловічу фертильність.

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** В науковій літературі опубліковано ряд звітів по дослідженню розповсюдження і патологічних наслідків впливу дизрапторів на людей. Однією з причин зниження фертильності чоловіків є патологічний вплив BPA на процеси сперматогенезу – складного процесу, що включає поєднання генетичних, гормональних,





екологічних та інших факторів, а тому дисбаланс будь-якого з них може призвести до втрати фертильності [5, 6]. Дослідження характеру розповсюдження ВРА показали високий вміст препарату в воді на прикладі найбільших річок: Індії – 1.95 мкг/л<sup>-1</sup>, Єгипету – 85,5 мкг/л<sup>-1</sup> та Китаю – 44,65 мкг/л<sup>-1</sup> [7, 8]. Ендокринним дизрапторам властива гормоноподібна або антигормональна активність. У тварин, які отримували ВРА ідентифіковано експресовані білки, що відіграють провідну роль в енергетичному метаболізмі та негативно впливають на показники фертильності тварин [9].

В регулюванні процесів сперматогенезу домінують тестостерон та інгібін В, які утворюються клітинами Лейдіга та Сертолі. Будь-які порушення гормонального фону можуть справляти патологічний вплив на процеси сперматогенезу, що веде до зниження фертильності [10]. В роботі іспанських дослідників, що вивчали вплив ВРА на рівень загального тестостерону, лютеїнізуючого гормону, фолікулостимулюючого гормону та кортизолу отримані дані, що демонструють дію ВРА на гормональний статус хлопчиків в віці 9–11 років та викликають негативні зміни в роботі їх ендокринної системи [11]. Дослідження тваринних моделей впливу ВРА на стероїдогенез GC *in vitro*, показали зниження фертильності піддослідних тварин під дією ендокринного дизраптору [12]. Справедливість висновків про деструктивний вплив ВРА на процеси сперматогенезу, порушення синтезу стероїдів і, як наслідок, на фертильність доводиться численними дослідженнями з використанням тваринних моделей [13, 14].

Однак проведені дослідження залишають без відповіді ряд питань, в тому числі: за яких умов і при якій концентрації ВРА викликає порушення ендокринної функції, що можуть призвести до системних і тривалих негативних наслідків для окремої людини і популяції людей в цілому.

**Мета статті** - проведення аналізу тривалого впливу бісфенолу А на гормональний статус та фертильність.

**Матеріал та методи дослідження** Дослідження проведено на кафедрі патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології Дніпровського державного медичного університету (м. Дніпро). Тварини утримувались у стандартних умовах віварію ДДМУ, усі процедури проведено відповідно до міжнародних вимог і норм гуманного відношення до тварин. Директиви № 2010/63/ЄС про захист тварин, що використовуються з науковою метою (2010 р.), Закону України 3447-ІУ від 21.02.2006 р., наказу МОЗ України № 231 від 01.11.2005 року., та висновку комісії з питань біомедичної етики ДДМУ (протокол № 8 від 17.12. 2019 р.).

Дослідження проведені на 120 щурах самцях лінії Wistar. Рівень тестостерону та 17β-естрадіол в сироватці крові визначали з використанням тест-наборів імуноферментного аналізу: Rat Testosterone ELISA Kit, та Rat Estrogen ELISA Kit. Фертильність щурів визначали шляхом парування



дослідних самців з інтактними самицями у співвідношенні самець : самиця – 1:1 протягом 2–3 естральних циклів.

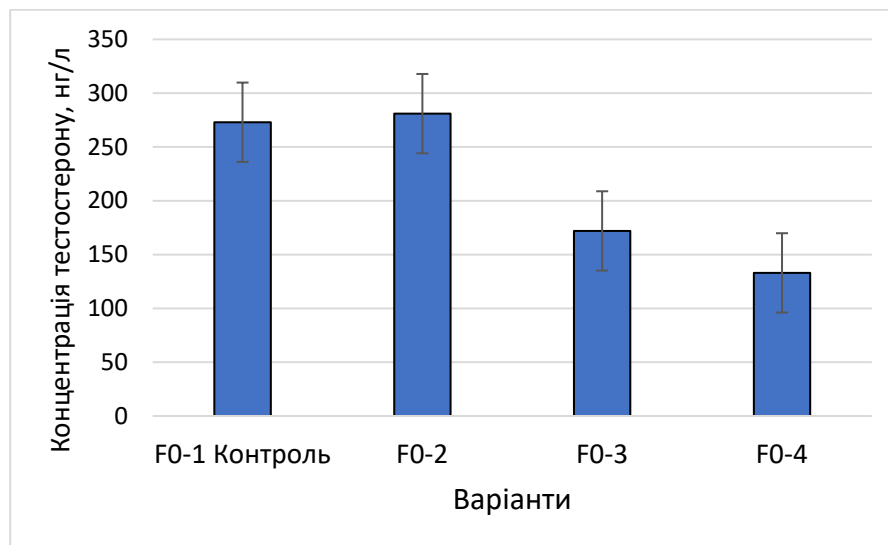
Тварин утримували у клітках із вільним доступом до води та їжі, яка включала всі необхідні вітаміни і мікроелементи, за умов: 12/12 годинний цикл світло/темрява при температурі 22°C. Відібрані щури були розділені на чотири групи: F0-1 – контрольна група (n=30) – інтактні тварини, які знаходились на звичайному харчуванні; F0-2 – група порівняння (n=30) – тварини, яким додатково давали кукурудзяну олію; F0-3 – експериментальна група (n=30) – піддослідні тварини, яким протягом 120 діб вводили бісфенол А (Sigma-Aldrich, USA), розчинений в кукурудзяній олії, дозою – 50 мг/кг/добу; F0-4 – експериментальна група (n=30) – тварини, яким протягом 120 діб вводили бісфенол А, розчинений в кукурудзяній олії дозою – 250 мг/кг/добу. Тварин виводили з експерименту шляхом введення тіопенталу натрію (50 мг/кг маси тіла внутрішньочеревенно).

Статистичну обробку результатів дослідження проводили за допомогою пакету програм STATISTICA (StatSoftInc., США) для оформлення результатів дослідження застосовували програмне забезпечення Microsoft Office Home and Business. Перевірку розподілу даних на нормальність проводили за допомогою тесту Шапіро-Вілка. Для оцінки відмінностей між експериментальними групами використовувався критерій Краскела-Уолліса. Критичний рівень значимості нульової статистичної гіпотези приймали  $\leq 0,05$  [15].

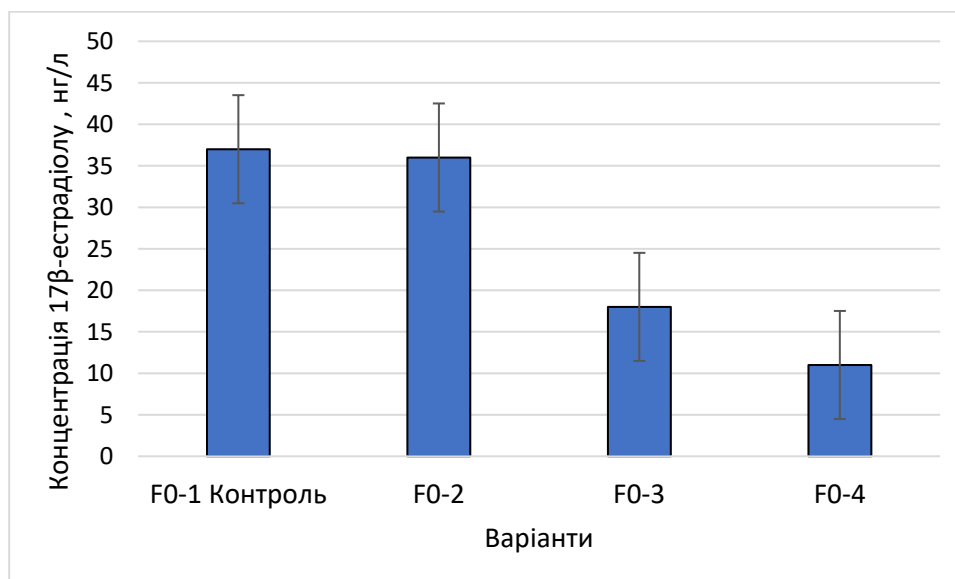
**Виклад основного матеріалу.** Однією з умов стабільної роботи складної репродуктивної системи є підтримання необхідного рівня гормонального фону. В нашому експерименті ВРА сприяв статистично значущому зниженню концентрації досліджуваних гормонів у сироватці крові щурів експериментальних груп F0-3 і F0-4, які зазнали тривалого впливу ВРА, порівняно з контрольною групою ( $p < 0,05$ ). Так, дослідні тварини групи F0-4, що отримували ВРА протягом 120 діб дозою 250 мг/кг/доба, мали найнижчий рівень тестостерону в сироватці крові із середньою концентрацією  $133 \pm 21$  нг/л ( $p < 0,05$ ), за аналогічних умов, але меншій дозі ВРА в групі F0-3 середній рівень тестостерону склав  $172 \pm 17$  нг/л. У щурів-самців контрольної групи F0-1 і групи порівняння F0-2 середні показники тестостерону відповідно склали  $273 \pm 16$  і  $281 \pm 21$  нг/л. Отже концентрація тестостерону в сироватці крові щурів групи F0-4, на 120 добу експерименту, знизилась на 63 %, а у групи F0-3 на 49 % (рис. 1).

До того ж, ВРА помітно пригнічував і рівень  $17\beta$ -естрадіолу, так середня концентрація  $17\beta$ -естрадіолу в сироватці крові щурів груп F0-3 і F0-4 склала  $18 \pm 3$  і  $11 \pm 2$  нг/л ( $p < 0,05$ ), а у контрольній групі –  $37 \pm 4$  нг/л. Таким чином, показники концентрації  $17\beta$ -естрадіолу в сироватці крові щурів груп F0-3 F0-4 знизились відповідно на 51 % та 70 %. У тварин контрольної групи F0-1 і групи порівняння F0-2, які не отримували ВРА концентрація гормонів відповідає фізіологічній нормі і не зазнала статистично значущих змін (рис. 2).





**Рис. 1** Вплив ВРА на рівень тестостерону в сироватці крові, 120 доба від початку експерименту. Відмінності були статистично значущими порівняно з показниками контрольної групи,  $p < 0,05$ .



**Рис. 2** Вплив ВРА на рівень 17β-естрадіолу в сироватці крові. Відмінності були статистично значущими порівняно з показниками контрольної групи,  $p < 0,05$ .

Зниження рівня тестостерону в сироватці крові щурів експериментальних груп F0-3 F0-4 обумовлено негативним впливом ВРА у проліферативну активність клітин Лейдіга. Таку закономірність в своїх дослідженнях визначив Нанйяппа Манйунатга (Nanjappa Manjunatha), він припустив, що ВРА діє як мітоген у клітинах Лейдіга та пригнічує експресію білка рецептора лютеїнізуючого гормону (LHCGR) і ферменту 17-бета-гідроксистероїд

дегідрогенази (HSD17B3), тим самим зменшуючи секрецію андрогенів клітинами Лейдига (Manjunatha N., Simon L., Akingbemi B. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biol Reprod.* 2012. Vol. 86(5). P. 135. doi: 10.1095/biolreprod.111.095, /biolreprod.111.095349 ). Низький рівень  $17\beta$ -естрадіолу, з іншого боку, може бути відповідальним за апоптотичну дегенерацію статевих клітин, як описав в своїх дослідженнях Пентікаїнен В. (Pentikäinen V.) [17], що пояснює зменшення кількості шарів сперматогенного епітелію, а також наявність фрагментів статевих клітин в просвіті звивистих сім'яних каналців сім'яників щурів груп F0-3 F0-4, які отримували ВРА протягом 120 діб. В іншому дослідженні введення ВРА зменшувало біосинтез тестостерону, пригнічуючи активність нейронів GnRH та експресію стероїдогенних ферментів. Як наслідок дії ВРА, спостерігалось зниження рівня тестостерону та зменшення концентрації сперматозоїдів (Furuya M., Adachi K., Kuwahara S., Ogawa K., Tsukamoto Y. Inhibition of male chick phenotypes and spermatogenesis by bisphenol-a. *Life Sci.* 2006. Vol. 78(15). P. 1767–1776. doi: 10.1016/j.lfs.2005.08.016). Експерименти *in vivo* на щурах лінії Вістар, проведені на різних стадіях розвитку, показали, що естрогенна дія ВРА призводить до пригнічення тестикулярного стероїдогенезу, що в свою чергу викликає гіпогонадотропний гіпогонадізм з розвитком дефектів репродуктивних шляхів [19].

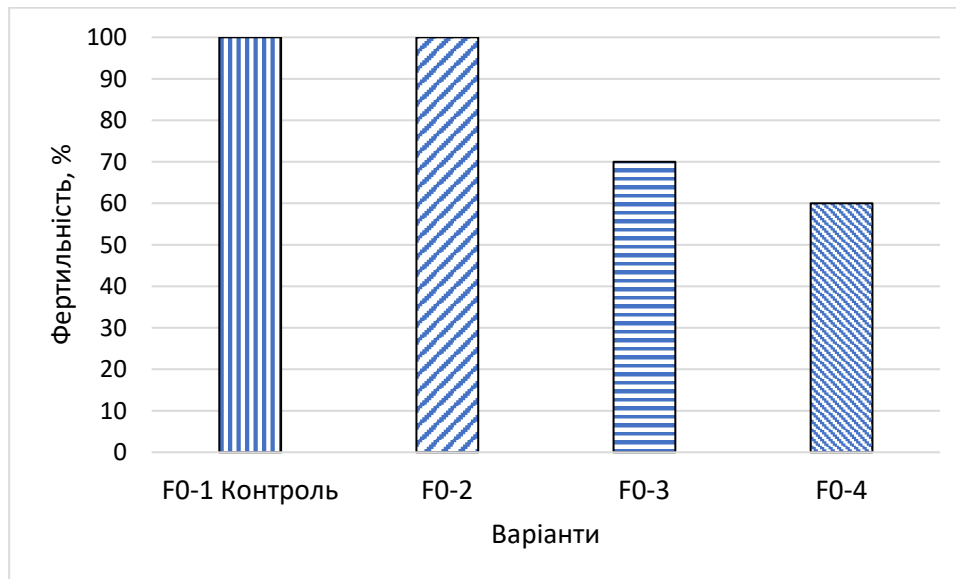
В ході нашого експерименту спостерігалось поступове зменшення фертильності самців, які зазнали тривалого впливу ВРА. Перші результати тенденції негативного впливу ксеноестрогену відзначались вже після перших двох місяців експерименту. Однак, статистично значущі зміни показників фертильності відзначались в кінці експерименту ( $p \leq 0,05$ ). Так, період від 113 до 120 доби дослідження характеризувався зниженням фертильності тварин в групі F0-3 на 30 %,  $p \leq 0,05$  і в групі F0-4 на 40 %,  $p \leq 0,05$ . Натомість в групах F0-1 (контроль) і F0-2 показники фертильності протягом експерименту не мали статистично значимих змін (рис. 3).

Отже, наслідком впливу досліджуваної речовини стало суттєве зменшення фертильних щурів самців експериментальних груп, що отримували ВРА дозою 50 і 250 мг/кг/доба протягом 120 діб, порівняно з інтактними тваринами контрольної групи.

Таким чином, експериментальні дані виявили комплекс пролонгованих негативних змін токсичної дії ВРА, які практично не проявлялись за експозиції препарату менше 60 діб. Руйнівна дія ВРА при коротко тривалому впливі, імовірно, компенсувалася антистресовими механізмами ендокринної та репродуктивної систем. Комплексний аналіз дисфункціональних змін і можливість реалізації репродуктивної функцій в довгостроковій перспективі показали, що ВРА є тестикулярним токсикантом, який викликає гормональний дисбаланс та негативно впливає на процеси фертильності.







**Рис. 3.** Зміни фертильності щурів під впливом ВРА, 120 доба експерименту, %

**Висновки.** Оцінюючи отримані результати експериментальних досліджень можна зробити наступні підсумки:

Деструктивна дія ксеноестрогена ВРА спрямована на складні гормонозалежні процеси сперматогенезу. Під впливом ВРА поступово сформувалися комплекси порушень, які змінювали гормональний статус дослідних тварин: суттєве зниження концентрації тестостерону і  $17\beta$ -естрадіолу в сироватці крові щурів експериментальних групах F0-3 і F0-4, порівняно з контрольною групою, де концентрація гормонів відповідала фізіологічній нормі і не зазнала статистично значущих змін.

Аналіз дисфункціональних змін і можливість реалізації репродуктивної функцій в довгостроковій перспективі показує, що ВРА є тестикулярним токсикантом, який викликає гормональний дисбаланс та негативно впливає на процеси сперматогенезу, знижуючи рівень фертильності тварин.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження будуть спрямовані на встановлення складних механізмів впливу ВРА на фертильність потомства при реалізації репродуктивної функції.

#### **Література:**

1. Eisenberg M., Esteves S., Lamb D., Hotaling J., Giwercman A. Male infertility. Nat Rev Dis Primers. 2023. Sep 14. № 9(1) p. 49. doi: 10.1038/s41572-023-00459-w.
2. Pathak U., Gabrielsen J., Lipshultz L. Cutting-Edge Evaluation of Male Infertility. Urol Clin North Am. 2020. № 47(2). P. 129–138. doi: 10.1016/j.ucl.2019.12.001.
3. Overview of Endocrine. An official website of the United States government. Disruption. 2023. <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/overview-endocrine-disruption#examples>.





4. Environmental Protection Agency What is Endocrine Disruption? September 2021. Available online: <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/what-endocrine-disruption>.
5. Rahman M.S., Kwon W.S., Karmakar P.C., Yoon S.J., Ryu B.Y., Pang M.G. Gestational Exposure to Bisphenol A Affects the Function and Proteome Profile of F1 Spermatozoa in Adult Mice. *Environ. Health Perspect.* 2017. № 125. p.238–245. doi: 10.1289/EHP378.
6. Rahman M.S., Kwon W.S., Ryu D.Y., Khatun A., Karmakar P.C., Ryu B.Y., Pang M.G. Functional and Proteomic Alterations of F1 Capacitated Spermatozoa of Adult Mice Following Gestational Exposure to Bisphenol A. *J. Proteome Res.* 2018. № 17. P. 524–535. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00668.
7. Lee C., liqq L., Kuq Y., Hsieh C., Chen C. The potential role of water quality parameters on occurrence of nonylphenol and bisphenol A and identification of their discharge sources in the river ecosystems. *Chemosphere.* Vol. 91. 2013. P. 904-911. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.006>.
8. Radwan E., Ibrahim M., Adel A., Farouk M. The occurrence and risk assessment of phenolic endocrine-disrupting chemicals in Egypt's drinking and source water. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020. Jan 27(2). P. 1776–1788. doi: 10.1007/s11356-019-06887-0.
9. Cimmino I., Fiory F., Perruolo C., et al. Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA). Contributing to Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020. № 21(16). P. 5761. <https://doi.org/10.3390/ijms21165761>.
10. Grami D., Rtibi K., Selmi S., Jridi M., Sebai H., Marzouki L. Aqueous extract of *Eruca Sativa* protects human spermatozoa from mitochondrial failure due to bisphenol A exposure. *Reprod Toxicol.* 2018. Dec 82. P. 103–110. doi: 10.1016/j.reprotox.2018.10.008.
11. Mustieles V., Ocón-Hernandez O., Mínguez-Alarcón L., Dávila-Arias C., Pérez-Lobato R. Bisphenol A and reproductive hormones and cortisol in peripubertal boys: The INMA-Granada cohort. *Sci Total Environ.* 2018. Mar 15(618). P. 1046–1053. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.093.
12. Téteau O., Carvalho A., Papillier P., Mandon-Pépin B., Jouneau L. Bisphenol A and bisphenol S both disrupt ovine granulosa cell steroidogenesis but through different molecular pathways. *J Ovarian Res.* 2023. Vol. 16(1). P.30. doi: 10.1186/s13048-023-01114-4.
13. Mostari M. H., Rahaman M. M., Akhter M. A., Ali M. H. Transgenerational effects of bisphenol A on zebrafish reproductive tissues and sperm motility. *Reprod. Toxicol.* 2022. № 109. P. 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.02.005>.
14. Tan H., Zheng Z., Wang S., Yang L., Widelka M., Chen D. Neonatal exposure to bisphenol analogues disrupts genital development in male mice. *Environ Pollut.* 2023. Aug 1. 330. 12–17. doi: 10.1016/j.envpol.2023.121783.
15. George D., Mallery P. *IBM SPSS Statistics 27 Step by Step: A Simple Guide and Reference 17th Edition.* Taylor & Francis Ltd. 2022. 404 p.
16. Manjunatha N., Simon L., Akingbemi B. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biol Reprod.* 2012. Vol. 86(5). P. 135. doi: 10.1095/biolreprod.111.095. /biolreprod.111.095349.
17. Pentikäinen V., Erkkilä K., Suomalainen L., Parvinen M., Dunkel L. Estradiol acts as a germ cell survival factor in the human testis in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000. Vol. 85(5). P. 2057-2067. doi: 10.1210/jcem.85.5.6600.
18. Furuya M., Adachi K., Kuwahara S., Ogawa K., Tsukamoto Y. Inhibition of male chick phenotypes and spermatogenesis by bisphenol-a. *Life Sci.* 2006. Vol. 78(15). P. 1767–1776. doi: 10.1016/j.lfs.2005.08.016.
19. Vom Saal F. Triennial reproduction symposium: environmental programming of reproduction during fetal life: effects of intrauterine position and the endocrine disrupting chemical bisphenol A. *J Animal Sci.* 2016. Vol. 94. P. 2722–2736. doi: 10.2527/jas.2015-0211.



**References:**

1. Eisenberg M., Esteves S., Lamb D., Hotaling J., Giwercman A. (2023). Male infertility. *Nat Rev Dis Primers*. Sep 14. № 9(1) p. 49. doi: 10.1038/s41572-023-00459-w.
2. Pathak U., Gabrielsen J., Lipshultz L. Cutting-Edge Evaluation of Male Infertility. *Urol Clin North Am*. 2020. № 47(2). P. 129–138. doi: 10.1016/j.ucl.2019.12.001.
3. Overview of Endocrine. An official website of the United States government. Disruption. (2023). <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/overview-endocrine-disruption#examples>.
4. Environmental Protection Agency What is Endocrine Disruption? September (2021). Available online: <https://www.epa.gov/endocrine-disruption/what-endocrine-disruption>.
5. Rahman M.S., Kwon W.S., Karmakar P.C., Yoon S.J., Ryu B.Y., Pang M.G. (2017). Gestational Exposure to Bisphenol A Affects the Function and Proteome Profile of F1 Spermatozoa in Adult Mice. *Environ. Health Perspect*. № 125. p.238–245. doi: 10.1289/EHP378.
6. Rahman M.S., Kwon W.S., Ryu D.Y., Khatun A., Karmakar P.C., Ryu B.Y., Pang M.G. (2018). Functional and Proteomic Alterations of F1 Capacitated Spermatozoa of Adult Mice Following Gestational Exposure to Bisphenol A. *J. Proteome Res*. № 17. P. 524–535. doi: 10.1021/acs.jproteome.7b00668.
7. Lee C., liqq L., Kuq Y., Hsieh C., Chen C. (2013). The potential role of water quality parameters on occurrence of nonylphenol and bisphenol A and identification of their discharge sources in the river ecosystems. *Chemosphere*. Vol. 91. P. 904-911. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.02.006>.
8. Radwan E., Ibrahim M., Adel A., Farouk M. (2020). The occurrence and risk assessment of phenolic endocrine-disrupting chemicals in Egypt's drinking and source water. *Environ Sci Pollut Res Int*. Jan 27(2). P. 1776–1788. doi: 10.1007/s11356-019-06887-0.
9. Cimmino I., Fiory F., Perruolo C. (2020). Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA). Contributing to Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. № 21(16). P. 5761. <https://doi.org/10.3390/ijms21165761>.
10. Grami D., Rtibi K., Selmi S., Jridi M., Sebai H., Marzouki L. (2018). Aqueous extract of *Eruca Sativa* protects human spermatozoa from mitochondrial failure due to bisphenol A exposure. *Reprod Toxicol*. Dec 82. P. 103–110. doi: 10.1016/j.reprotox.2018.10.008.
11. Mustieles V., Ocón-Hernandez O., Mínguez-Alarcón L., Dávila-Arias C., Pérez-Lobato R. (2018). Bisphenol A and reproductive hormones and cortisol in peripubertal boys: The INMA-Granada cohort. *Sci Total Environ*. Mar 15(618). P. 1046–1053. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.09.093.
12. Téteau O., Carvalho A., Papillier P., Mandon-Pépin B., Jouneau L. (2023). Bisphenol A and bisphenol S both disrupt ovine granulosa cell steroidogenesis but through different molecular pathways. *J Ovarian Res*. Vol. 16(1). P.30. doi: 10.1186/s13048-023-01114-4.
13. Mostari M. H., Rahaman M. M., Akhter M. A., Ali M. H. (2022). Transgenerational effects of bisphenol A on zebrafish reproductive tissues and sperm motility. *Reprod. Toxicol*. № 109. P. 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.02.005>.
14. Tan H., Zheng Z., Wang S., Yang L., Widelka M., Chen D. (2023). Neonatal exposure to bisphenol analogues disrupts genital development in male mice. *Environ Pollut*. Aug 1. 330. 12–17. doi: 10.1016/j.envpol.2023.121783.
15. George D., Mallery P. (2022). *IBM SPSS Statistics 27 Step by Step: A Simple Guide and Reference 17th Edition*. Taylor & Francis Ltd. 404 p.
16. Manjunatha N., Simon L., Akingbemi B. (2012). The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biol Reprod*. Vol. 86(5). P. 135. doi: 10.1095/biolreprod.111.095./biolreprod.111.095349.



17. Pentikäinen V., Erkkilä K., Suomalainen L., Parvinen M., Dunkel L. (2000). Estradiol acts as a germ cell survival factor in the human testis in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* Vol. 85(5). P. 2057-2067. doi: 10.1210/jcem.85.5.6600.

18. Furuya M., Adachi K., Kuwahara S., Ogawa K., Tsukamoto Y. (2006). Inhibition of male chick phenotypes and spermatogenesis by bisphenol-A. *Life Sci.* Vol. 78(15). P. 1767–1776. doi: 10.1016/j.lfs.2005.08.016.

19. Vom Saal F. (2016). Triennial reproduction symposium: environmental programming of reproduction during fetal life: effects of intrauterine position and the endocrine disrupting chemical bisphenol A. *J Animal Sci.* Vol. 94. P. 2722–2736. doi: 10.2527/jas.2015-0211.

