

# Toxicidad del Bisfenol A: Revisión

Juan-García A. \*, Gallego C., Font G.

<sup>a</sup> Laboratorio de Toxicología, Facultat de Farmàcia, Universitat de València. Av. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100 Burjassot, València, Spain

**Resumen:** El Bisfenol A (BPA) es un compuesto químico muy utilizado en la industria. Se emplea como elemento y/o componente destinado a la fabricación de plásticos y resinas epoxi. Los plásticos y resinas producidas con BPA se usa para la producción de recipientes con distintas aplicaciones, como puede ser; el envase de alimentos y bebidas, vajillas, papel térmico y dispositivos utilizados en el campo de la medicina, etc. Los seres humanos están expuestos a BPA de manera habitual, siendo la exposición a través de la dieta, (envases de comida y bebida) la fuente más importante de riesgo. Los materiales que permanecen en contacto con los alimentos son un punto clave de fuente contaminación, por ello deben estar evaluados y regulados para su utilización.

El BPA se considera un disruptor endócrino con capacidad de alterar funciones y sistemas del organismo. En los últimos años, diversos estudios han relacionado la exposición a BPA con la aparición de efectos adversos para la salud. La EFSA, en su última opinión científica a cerca del BPA, concluye que, este compuesto no presenta riesgos para la salud de los expuestos y por tanto, actualmente en la Unión Europea, el BPA se considera un producto autorizado para la utilización como material destinado a entrar en contacto con los alimentos. Sin embargo, se continúa investigando sobre el BPA y sus posibles efectos adversos. La presente revisión recoge los estudios más recientes, "in vitro" e "in vivo" sobre la toxicidad del BPA, agrupados en las categorías, donde se ha visto implicación del BPA, en el estado de salud, siendo estas: proliferación celular y cáncer, alteraciones en el desarrollo y maduración celular, estrés oxidativo y daño en el material genético y afectación a nivel metabólico, reproductivo, cardiovascular y neuronal.

**Palabras Claves:** Bisfenol A, envases, disruptor endócrino, toxicidad, exposición dietética.

**Abstract:** Bisfenol A (BPA) is a chemical compound commonly used in industry. It is generally used as an element and/or component in the manufacturing of plastics and epoxy resins. These plastics and resins are used in the manufacture of containers with different purposes, for example; in the packaging of food and drinks, crockery, thermic paper, devices used in the medical field etc. Human beings are commonly exposed to BPA, being the diet (food and drink packaging) the highest exposure factor and therefore a key contamination spot. For this reason it is necessary that the usage of materials which are in contact with food is properly evaluated and regulated.

BPA is considered a endocrine disruptor, with the capacity to alter functions and systems in the organism. Several studies have recently proposed a relation between the exposure to BPA and the appearance of adverse effects for the health. However, the EFSA recently concluded in their latest scientific opinion on the topic, that this compound does not imply any risk for the health of the exposed population. Therefore the EU considers BPA an authorised product to be used as material to enter in contact with food. However research on BPA and its potential negative effects is still ongoing. This review contains the latest "in vitro" and "in vivo" studies about BPA toxicity, these studies are grouped in the following categories (regarding different implications); cellular proliferation and cancer, alterations in development and cellular maturation, oxidative stress, damage to genetic material and finally alterations at a metabolic, reproductive, cardiovascular or neuronal level.

**Keywords:** Bisfenol A, packaging, endocrine disruptor, toxicity, diet exposition

\*e-mail: ana.juan@uv.es

## Introduction

### 1.1 Bisfenol A

El Bisfenol A (BPA) [4,4'-dihidroxi-2,2-difenilpropano] (Figura 1) es un compuesto químico comúnmente utilizado en la industria. Sus niveles de producción mundial alcanzan cifras elevadas y en 2006 se registró una producción de 3'8 millones de toneladas (Fitzgerald et al., 2014). Se obtiene por la condensación de dos moléculas fenol con una molécula de acetona en presencia de ácido clorhídrico (Vandenberg et al., 2009). Fue sintetizado por primera vez en 1891 por el químico ruso Aleksandr Dianin, pero hasta principios de 1930 no se conocieron sus propiedades y actividad estrogénica (Dodds & Lawson, 1989).

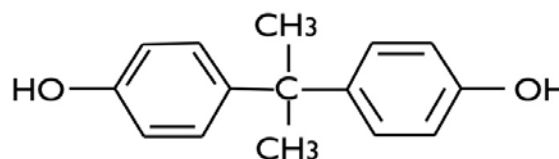


Figura 1. Estructura química del BPA

El BPA forma parte del grupo de compuestos disruptores endocrinos (DE) "sustancias exógenas al organismo que se encuentran en el medio ambiente, en los alimentos y en los productos destinados a los consumidores, que interfieren con la biosíntesis de hormonas, el metabolismo y en las acciones resultantes de estas, provocando una alteración en la homeostasia normal del individuo expuesto o en la de sus descendientes" (Diamanti-Kandarakis et al., 2009). Se ha demostrado que el BPA tiene afinidad por los receptores de los estrógenos y por tanto, posee la capacidad de producir efectos estrogénicos.

Es importante destacar que los efectos más graves de los DE, y por tanto del BPA, se han visto en niños y niñas de madres expuestas durante el embarazo y la lactancia, por ello muchos estudios se centran en la evaluación de la exposición prenatal y los efectos adversos en los niños (Braun et al., 2011).

El BPA y los DE siguen un comportamiento particular en sus curvas de dosis-efecto, es decir el efecto máximo se produce a dosis bajas; por lo que es de interés, evaluar y analizar los efectos que tienen lugar a concentraciones muy bajas (Vandenberg et al., 2012).

### 1.1 Aplicaciones y utilización

El BPA se utiliza como un elemento y/o componente destinado a la fabricación de plásticos de policarbonato y resinas epoxi (Mileva et al., 2014). El policarbonato y las resinas son materiales dirigidos a la producción de objetos y recipientes destinados a entrar en contacto con los alimentos y bebidas, como pueden ser: envases de alimentos/bebidas, recubrimientos de conservas, platos, tazas, platos de microondas, botellas de plástico, copas, latas, etc. Los plásticos producidos con BPA también tienen otras aplicaciones como son: la fabricación de CDs o DVDs, papel térmico, dispositivos médicos, gafas de sol, etc. (Vandenberg et al., 2007).

Los materiales que permanecen en contacto con los alimentos son un punto clave de fuente de contaminación, por lo que deben ser evaluados y regulados para su utilización. Por ello el BPA es un compuesto autorizado y regulado mediante el Reglamento de la Unión Europea (UE) 10/2011 de la Comisión, de 14 de enero de 2011, sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. En esta directiva se establece que un límite de migración específica (SML), es decir, la cantidad máxima de BPA permitida en

los alimentos que no conlleva un riesgo para la salud, siendo esta 0,6 mg/kg de alimento/día. (Reglamento 10/2011, 2011).

1.2 Exposición

El BPA tiene diferentes maneras de alcanzar el organismo, es decir, cuenta con diferentes vías de exposición: vía oral, vía inhalatoria y vía cutánea. Las fuentes más importantes de exposición al BPA son a través de: la dieta, el agua, el polvo, el contacto con papel térmico, materiales dentales, y dispositivos o aparatos utilizados en medicina (Geens et al., 2012).

Debido a la presencia en el medio ambiente de BPA, la población se encuentra expuesta al BPA de manera crónica y/o en las etapas más sensibles de la vida (Flint et al., 2012), pero se ha demostrado que la comida y más en concreto la comida en conserva o enlatada es la fuente de exposición de mayor importancia (Lorber et al., 2015).

Para el análisis de la exposición al BPA se han utilizado diferentes métodos y algunos estudios miden las concentraciones de BPA en los alimentos para observar la migración producida desde el envase al alimento y estimar la exposición del BPA en el organismo (Munguia-Lopez, 2005); otros estudios se centran en el análisis de los tejidos y fluidos corporales de individuos expuestos. El BPA en sangre, la concentración disminuye rápidamente tras la exposición, por ello se utiliza la orina como biomarcador principal para evaluar la exposición al BPA (Vandenberg et al., 2010). El BPA también ha sido detectado en el calostro, en el fluido folicular y amniótico, en el cordón umbilical, en el tejido placentario y en el hígado de fetos (Rochester, 2013).

En la última opinión científica publicada por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el 2015, se realizó una evaluación de la exposición dietética al BPA. Las concentraciones más alta de BPA se encontraron en los alimentos y productos envasados, en comparación con alimentos no envasados, donde la media muestra concentraciones fue de 18,68 µg/kg y 1,5 µg/kg de BPA respectivamente (Figura 2a) (EFSA, 2015).

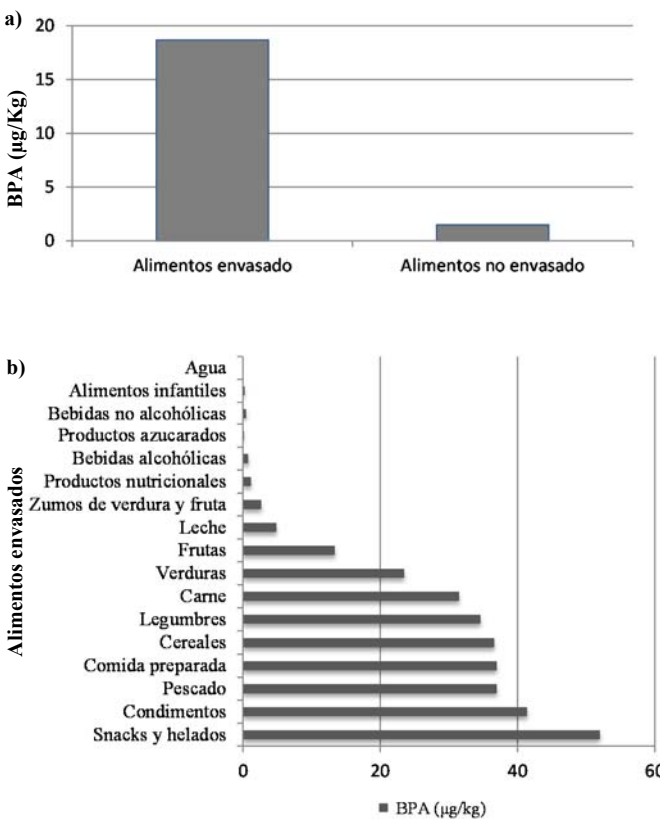


Figura 2. Presencia de BPA en productos envasados y no envasados (a); Grupos de alimentos envasados donde se observan las concentraciones más relevantes de BPA (EFSA, 2015).

Las categorías de alimentos envasados donde se observaron las concentraciones más relevantes de BPA fueron cereales, legumbres, carnes, pescados, condimentos, comida preparada, snacks y helados. Estas 7 categorías alcanzan valores superiores a 30 µg/kg BPA (Figura 2b) (EFSA, 2015).

Entre los alimentos no envasados las concentraciones de BPA más altas aparecieron en carne y pescado, con valores de 9,4 µg/kg y 7,4 µg/kg de BPA respectivamente (Figura 2b).

También se realizó una estimación de la cantidad de BPA dietético en grupos de población de diferentes rangos de edad. Los resultados mostraron niveles de BPA más altos en bebes y en niños (EFSA, 2015). Los fetos, bebes y niños representan la población con más riesgo frente a la exposición del BPA, ya que, el proceso de desarrollo y crecimiento del organismo es más susceptible a los efectos del BPA y otros DE (Moya et al., 2004).

El valor de Ingesta Diaria tolerable (IDT) del BPA ha sido modificado en el último informe realizado por la EFSA en el 2015, y ha pasado de 50 µg/kg pc/día a 4 µg/kg pc/día (EFSA, 2015). En referencia al análisis de la exposición del BPA realizado por la EFSA, este concluye que la exposición dietética no supera el valor de IDT para ningún grupo de edad, ya que los niveles calculados se encuentran 3-4 veces por debajo del valor de IDT. También se hace referencia y se apunta que la evaluación del exposición de fuentes no dietéticas presenta cierta incertidumbre y debe ser estudiada (EFSA, 2015)

1.3 Metabolismo y mecanismo de acción

Cuando el BPA alcanza por vía oral el organismo, se metaboliza en el hígado con mucha rapidez, convirtiéndose en un metabolito muy soluble: BPA-glucuronido (BPA-GLU) (Völkel et al., 2002). Una cantidad más pequeña de BPA, reacciona con sulfato dando lugar a BPA-Sulfato (Geens et al., 2012). La conjugación del BPA se considera un proceso de desintoxicación (Matthews et al., 2001), ya que este, se elimina de manera eficiente por la orina. Tras la exposición oral, el BPA libre es muy poco biodisponible, lo que demuestra la eficacia del primer paso hepático del metabolismo del BPA (EFSA, 2008).

El BPA conjugado no presenta actividad estrogénica, por lo que cuando el BPA es metabolizado, sólo una pequeña cantidad de BPA libre puede unirse a los receptores estrogénicos (ER) produciendo la alteración hormonal y los consiguientes efectos adversos (Mileva et al., 2014).

El mecanismo de acción del BPA varía, según la dosis, el tejido y la etapa de exposición (Vom Saal et al., 2007). Como se ha comentado, el BPA es un compuesto que tiene la capacidad de imitar las acciones de los estrógenos, y algunos estudios recientes han relevado que el BPA es un potente estrógeno sintético, ya que tiene la capacidad de alterar las respuestas celulares en diferentes tejidos y mediante diferentes mecanismos de acción y a dosis muy bajas, al unirse a los ER con gran afinidad (Alonso-Magdalena et al., 2012).

1.4 Efectos sobre la salud

Diversos estudios realizados con humanos han relacionado la exposición al BPA con la aparición de efectos adversos para la salud (Rochester, 2013). También se ha realizado estudios *in vivo* e *in vitro* donde se han evaluado los efectos del BPA (Vandenberg et al., 2013).

En este apartado se presentaran de manera general, los efectos tóxicos más destacables que han sido relacionados con el BPA en los estudios más recientes (Tabla 1) (Rochester, 2013).

1.5 Antecedentes

En los últimos años el BPA ha sido objeto de discusión. Los estudios y la preocupación por sus efectos sobre la salud han crecido considerablemente, convirtiendo al BPA en un protagonista en la prensa, de muchas publicaciones científicas y de opiniones científicas de las autoridades competentes.

**Tabla 1:** Efectos tóxicos relacionados con BPA.

REPRODUCCIÓN	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Fertilidad</li> <li>➤ Función sexual masculina</li> <li>➤ Reducción calidad espermatozoides</li> <li>➤ Concentración de hormonas sexuales</li> <li>➤ Síndrome de ovario poliquístico</li> <li>➤ Alteraciones del endometrio</li> <li>➤ Cáncer de mama</li> <li>➤ Aborto involuntario</li> <li>➤ Nacimiento prematuro</li> </ul>
DESARROLLO	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Peso de nacimiento</li> <li>➤ Anormalidades en los genitales masculinos</li> <li>➤ Anormalidades en comportamiento/neurodesarrollo en la infancia</li> <li>➤ Asma y problemas respiratorios en la infancia</li> </ul>
METABOLISMO	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Diabetes tipo 2</li> <li>➤ Alteraciones cardiovasculares, hipertensión y niveles de colesterol.</li> <li>➤ Función del hígado</li> <li>➤ Obesidad</li> </ul>
OTROS	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Función tiroidea</li> <li>➤ Función inmunológica</li> <li>➤ Albuminuria</li> <li>➤ Estrés oxidativo e inflamación</li> <li>➤ Expresión genética</li> </ul>

La EFSA ha realizado diferentes estudios y ha emitido un total de 4 opiniones científicas sobre el riesgo para la salud de los consumidores respecto al BPA en los años: 2006, 2008, 2010 y 2015. Las publicaciones realizadas por el organismo competente han sufrido modificaciones que a continuación se exponen.

En 2006 la EFSA realizó una caracterización del riesgo del BPA, donde incluyó una evaluación de la exposición a través de la dieta del BPA. Se estableció, entonces, un valor de 0,05 mg BPA/kg pc/día como IDT (EFSA, 2006). En 2008 la EFSA realizó una valoración de la toxicocinética del BPA, en esta, se afirmó que las diferencias dependientes de la edad en la toxicocinética observadas en animales y humanos tras la exposición al BPA no afectan al valor establecido como IDT en el 2006, reafirmando así el valor propuesto (EFSA, 2008).

En 2010, se recogieron todos los resultados de los estudios realizados y se volvió a evaluar el riesgo y peligro del BPA. En la opinión de 2010 se concluyó que los nuevos estudios examinados no aportan ninguna evidencia científica que planteara cambiar el valor de IDT establecido. Sin embargo, se contemplaron en algunos estudios con animales, y los efectos del BPA presentaban cierta incertidumbre, previamente no observada, y podrían tener relevancia toxicológica. En estos estudios se observaron algunos errores en su metodología de su realización por lo que la EFSA concluyó que los resultados obtenidos no habían sido evaluados en humanos y por tanto no se podían extraer conclusiones relevantes, pero que se debería de reconsiderar una nueva evaluación con nuevos datos disponibles (EFSA, 2010).

En 2011, la Agencia Francesa de Seguridad Sanitaria de los Alimentos (ANSES) publicó una opinión científica sobre el peligro del BPA, que presentaba notables diferencias respecto a la opinión de la EFSA del 2010. En este informe francés, se hacía hincapié a los peligros potenciales que presenta el BPA y a la necesidad de reducir su exposición.

Tras esto, la EFSA consideró necesario realizar una reevaluación más profunda del BPA y sus posibles riesgos (EFSA, 2011). Los datos más recientes en relación al BPA se han publicado a lo largo de este año, 2015 (EFSA, 2015), por lo que la publicación de la EFSA (EFSA, 2015) contiene una evaluación de la exposición más exhaustiva ya que, a diferencia de los trabajos realizados con anterioridad, se ha tenido en cuenta la evaluación de la exposición a BPA de fuentes no dietéticas (EFSA, 2015).

Otra novedad respecto a los informes anteriores, ha sido el planteamiento de un nuevo valor temporal de IDT, pasando a ser 4 µg/kg pc/día. En este informe se concluye, que “el BPA no presenta riesgos para la salud de los expuestos” sin embargo, se hace hincapié en la necesidad de evaluar de manera más detallada la exposición de fuentes no dietéticas (EFSA, 2015).

#### 1.6 Legislación y situación actual

Actualmente, en la UE el BPA se considera un producto autorizado para la utilización como material destinado a entrar en contacto con los alimentos (Reglamento UE 10/2011, 2011). En el caso de su utilización como material destinado a formar parte de los biberones de plástico para lactantes, el uso de BPA fue prohibido en 2011 (Reglamento 321/2011, 2011). Esta restricción se aplicó a partir del 1 de mayo de 2011 en relación con su fabricación y a partir del 1 de junio de 2011 respecto a su comercialización e importación en la UE (Reglamento UE 321/2011, 2011).

En referencia a el aspecto legislativo en España, se ha modificado el Anexo II del Real Decreto 866/2008 (RD, 2008), por el cual se aprueba la lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos de plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos y se regulan determinadas condiciones de ensayo, mediante la Orden PRE/628/2011 (2011). Esta modificación se basa en la inclusión en la normativa en referencia al BPA de: “no utilizar en la fabricación de biberones de policarbonato para lactantes” (RD 866/2008, 2008).

Por otra parte, es interesante señalar la regulación específica que sigue Francia, bajo la Ley nº 2012-1442, (2012) en la que el queda suspendida la fabricación, importación, exportación y comercialización de cualquier envase de alimentos que contenga BPA (Loi Nº 2012-1442, 2012).

En la última publicación realizada por la EFSA en el 2015, se concluye que “los niveles estimados de exposición dietética y de exposición agregada (dietética y no dietética) del BPA, en relación con la población con más riesgo de exposición (bebés, niños y adolescentes) es menor al IDT establecido (4 µg/kg pc/ día)”. Se señala también, que el valor es temporal, ya que se espera analizar los resultados que se obtengan de nuevos estudios relativos a los efectos en las glándulas mamarías, en la reproducción, en el comportamiento neuronal, y a nivel inmunológico y metabólico, principalmente debido a las inquietudes de posibles diferencias en los efectos obtenidos entre especies.

Es importante tener en cuenta que en el informe de la EFSA se afirma que, “existen algunas incertidumbres que deben ser evaluadas y estudiadas en referencia a la evaluación de la exposición del BPA de fuentes no dietéticas, como son la exposición a través del papel térmico, cosméticos y polvo” como se ha señalado anteriormente (EFSA, 2015). Se espera dar respuesta a algunas de estas cuestiones mediante la investigación que está llevando a cabo el Programa Nacional de Toxicología de Estados Unidos (NTP) en un futuro próximo.

De este modo, en la situación actual, y respecto a las directrices establecidas y opiniones científicas recientes, se podría afirmar que para los niveles estimados de exposición del BPA, no existe ninguna preocupación para la salud en ningún grupo de edad.

En esta revisión se pretende recoger los estudios *in vivo* e *in vitro* que se han llevado a cabo en los últimos años, poniendo de manifiesto los

efectos que produce el BPA, debido principalmente a mecanismos de acción que puede seguir el BPA en el organismo y efectos potenciales sobre la salud humana que puede provocar la exposición a BPA.

## Material y métodos

Para la realización de la presente revisión bibliografía se han consultado diferentes fuentes, textos y documentos de carácter científico utilizando distintos criterios de búsqueda. Se han consultado artículos científicos, revisiones sistemáticas, bases de datos y documentos de carácter legislativo. Las principales bases de datos utilizadas han sido: PubMed, Scopus, y Web of Science para la identificación de estudios y artículos para esta revisión.

Se realizó una búsqueda general, para conocer aspectos básicos y generales del BPA, mediante la utilización de las siguientes palabras clave: "bisphenol A, bisphenol A and health, toxicity of bisphenol A, bisphenol A in food". Posteriormente, la búsqueda se centró en aquellos artículos más recientes, en los que se valorarán efectos y consecuencias tras la exposición al BPA mediante la utilización de sistemas celulares y modelos animales. Se clasificaron los artículos en estudios "in vivo" e "in vitro", así como aquellos epidemiológicos realizados con humanos, y de biomonitoreo. En cuanto al aspecto legislativo del BPA, se han consultado los diferentes reglamentos y las modificaciones que estas han surgido en los últimos años.

## Resultados y discusión

### 3.1 Estudios toxicidad del BPA "in vitro"

En la Tabla 2 se recogen los estudios más recientes relacionados los efectos adversos tras la exposición de distintas líneas celulares a diferentes dosis de BPA. Los estudios se han agrupado en 7 categorías, según el efecto, es decir, el sistema o actividad que ha sido alterada como consecuencia de la exposición al BPA. Las categorías han sido:

1. Proliferación celular y cáncer.
2. Alteraciones en el desarrollo y maduración celular.
3. Estrés oxidativo y daño en el material genético.
4. Afectación a nivel metabólico.
5. Afectación sistema reproductivo.
6. Afectación sistema cardiovascular.
7. Afectación sistema neuronal.

### 3.2 Estudios toxicidad del BPA "In vivo"

En la Tabla 3 se recogen los estudios más recientes en relación con los efectos adversos consecuentes a la exposición, a diferentes dosis de BPA en modelos animales. Se ha dividido en diferentes categorías, siguiendo la misma estructura que en la recopilación de estudios *in vitro* (sección 3.1).

### 3.3 Toxicidad del BPA

En los últimos años, se han estudiado diferentes efectos que tienen lugar bajo la exposición del BPA *in vitro* e *in vivo*. Las tablas 2 y 3, contienen artículos de las categorías, mencionada anteriormente.

Aunque los estudios se han clasificado según las diferentes categorías, el desarrollo y comentario de los mismos se va a realizar centrándose en los estudios *in vitro* (Tabla 2) y posteriormente en los estudios *in vivo* (Tabla 3).

Son muchos los estudios que relacionan la exposición al BPA con distintos tipos de cáncer. El BPA cuenta con diferentes mecanismos por los cuales induce la aparición de carcinomas. Por una parte, el BPA promueve la sobreexpresión o la inhibición de determinados genes, proteínas reguladoras de los procesos apoptóticos o factores

determinantes del crecimiento celular provocando el crecimiento de tumores y el desarrollo de cáncer (Hussain et al., 2015, Bhan et al., 2014, Ptak et al., 2013 y 2015). Por otra parte, el BPA también tiene la capacidad de facilitar el proceso de migración e invasión celular, y así promover la metástasis del cáncer (Ma et al, 2015).

El BPA aumenta la expresión del gen HOXC6 a concentraciones muy bajas (0'1-1000 nM) en distintas líneas celulares: MCF7 (adenocarcinoma mamario sensible a receptores estrogénicos) y T47D (carcinoma ductal mamario sensible a receptores estrogénicos). También se incrementan los valores de expresión del gen en ratones *Sprague Dawley* cuando se les administra 25 µg/kg pc de BPA. La sobreexpresión del gen HOXC6 se utiliza como indicador de distintos tipos de cáncer de mama, ya que se ha visto que el aumento de los niveles de expresión, inducen el crecimiento de factores tumorales y facilita la formación de colonias, indicando un riesgo potencial en el crecimiento de un tumor en las glándulas mamarias. La relación del BPA con el aumento de la expresión del gen HOXC6 se ha observado en líneas celulares sensibles a los receptores de estrógenos, mientras que en cultivos celulares de adenocarcinoma mamario negativos para receptores de estrógenos (MDA-MB-231), los efectos del BPA no muestran el mismo. Esto se traduce, a que el BPA aparentemente tiene actividad carcinógena debido a sus propiedades estrogénicas (Hussain et al., 2015).

Bhan y col. (2014) han reforzado la hipótesis planteada anteriormente, en referencia a que la relación entre BPA y cáncer, se debe principalmente a la capacidad del BPA en actuar como un estrógeno sintético sobre los receptores estrogénicos del organismo, modulando la expresión de determinados genes o proteínas. En este caso, se ha comprobado que el BPA, también a concentraciones nanomolares (100 nM) aumenta la expresión del gen HOTAIR en células de cáncer de pecho positivas a los receptores de estrógeno (MCF7) y en glándulas mamarias de ratones *Sprague Dawley* cuando se les administra 25 µg/kg pc. El gen HOTAIR es un gen que se encuentra sobreexpresado en los tejidos con cáncer de mama y que también, sus niveles de expresión están inducidos por la exposición al BPA.

Además de la alteración de los niveles de expresión de los genes anteriormente descritos (HOXC6, HOTAIR) el BPA inhibe la expresión del gen Caspasa3 a concentraciones por debajo a las utilizadas en los otros estudios (40 nM). Se ha visto en líneas celulares de cáncer de ovario (OVCAR3) que la exposición al BPA, inhibe los niveles de expresión genética y proteica de Caspasa3. Las caspasas son moléculas encargadas de mediar procesos apoptóticos, por lo que alteraciones en sus niveles, alteran el proceso de muerte celular programa y promueven el desarrollo de tumores (Ptak et al., 2013).

La migración e invasión celular son procesos determinantes en el desarrollo y crecimiento del cáncer, se ha visto que el BPA está implicado en la inducción de estos procesos. A concentraciones de  $10^{-6}$  M de BPA se promueve la expresión de fibronectina (FN) y metaloproteínasa 9 (MMP9) en líneas celulares de cáncer cervical (HeLa, SiHa y C-33). El aumento de los niveles de estos dos compuestos, se traduce con el aumento de proteínas implicadas en la migración de células cervicales cancerosas. Además, el BPA a  $10^{-8}$  M disminuye la concentración de BAY11-7082 (inhibidor de NF-kB), una regulación defectuosa de NF-kB se relaciona con distintas enfermedades, entre ellas, el cáncer. Por lo que el BPA estimula la migración, movilidad e invasión de la células cervicales cancerosas, es decir, la metástasis del tumor, mediante NF-K β, FN y MMP9 (Ma et al, 2015).

Yang y col. (2013) también han investigado la relación del BPA y la proliferación de células tumorales durante la mamogénesis. Se ha visto que el BPA a las mismas concentraciones que promueven el aumento de proteínas implicadas en la migración de células tumorales ( $1 \times 10^{-6}$  M), disminuye los niveles de proteínas E-cadherina en células madres embrionarias humanas (X-01). Las cadherinas son moléculas implicadas en la adhesión celular y se han relacionado con la metástasis de diversos tumores. Además se ha visto que la exposición

a BPA también aumenta la expresión del OCT4 y proteínas NANONG. Estas dos moléculas se han detectado en concentraciones superiores en células madre cancerígenas; por lo que la exposición a bajas dosis de BPA durante el proceso de diferenciación celular o formación de células mamarias epiteliales, altera la expresión de marcadores moleculares y aumenta la sensibilidad o el riesgo a padecer cáncer de mama.

Los tumores malignos estimulan la formación de vasos sanguíneos mediante la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), proteína encargada del desarrollo de capilares sanguíneos. El BPA tiene un efecto estimulante en la expresión y secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y en su receptor (VEGF-R) a concentraciones nanomolares (1, 40 y 100 nM) en células ováricas cancerosas (SKOV-3 y OVCAR-3), pero no en células humanas no cancerosas (HOSEpiC), por lo que el BPA favorece el proceso de crecimiento y adaptación al organismo de los tumores (Ptak et al., 2015).

El peligro o la potencialidad de los efectos adversos para la salud de la mayoría de los disruptores endocrinos, incluyendo el BPA, se han visto cuando la exposición tiene lugar en estadios tempranos de la

vida, alterando los procesos de desarrollo, maduración y/o diferenciación celular. De ahí la importancia de centrar los efectos del BPA cuando la exposición tiene lugar en los primeros estadios de desarrollo del feto o en primeros estadios de embarazo.

El BPA es capaz de alterar el desarrollo de la placenta y consecuentemente promover complicaciones del embarazo y del feto. El trofoblasto, y más en concreto el sincitiotrofoblasto, son capas de la placenta encargadas de producir números factores de crecimiento, hormonas y enzimas importantes para el desarrollo del feto. Se ha visto que el BPA en concentraciones de 0,1 - 2 µg/mL en células primarias del trofoblasto aumenta los niveles de proteínas y de actividad de 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (11β-HSD2), compuesto clave para el correcto desarrollo y la maduración del feto.

**Tabla 2:** Estudios de toxicidad "in vitro" de BPA

CÉLULAS	DOSIS TIEMPO	OBJETIVO	MÉTODO/ENSAYO	EFEECTO/RESULTADOS	REFERENCIA
MCF7 T47D MDA-MB-231	* 0'1, 1, 10, 100, 1000 nM  * 15 minutos, 30 minutos y 1, 2,4 6 h.  * E2 0'01, 0'1, 1,10, 100 nM	Evaluación de la expresión de HOXC6	a) Q-PCR: expresión de HOXC6.  b) ChIP: ensayo de inmunoprecipitación de cromatina para determinar los enlaces de ER y MLL al promotor de HOXC6.  c) Ensayo de formación de colonias 3D.	a) Tratamiento con BPA, ↑ expresión de HOXC6 en MCF7 y T47D y ↓ en MDA-MB- 231, es decir, es ↑ la expresión en ER positivo y no en ER negativo (cáncer positivo o negativo para receptores de estrógenos).  Tratamiento con E2 + BPA ↑ expresión de HOXC6 en MCF7 y T47D y ↓ en MDA-MB- 231, es decir, es ↑ la expresión en ER positivo y no en ER negativo.  b) BPA y E2 modulan el reclutamiento de ERα y reguladores de ER (MLL) y promueven la modificación de histonas en los promotores de HOXC6.  c) El aumento de la expresión de HOXC6 induce el crecimiento de tumores y facilita la formación de colonias 3D.	Hussain et al., 2015
MCF7	* 100 nM  * 4 H  * E2 0'1 nM	Evaluación de la expresión de HOTAIR	a) Q-PCR para determinar la expresión del gen HOTAIR.  b) Ensayo de inmunoprecipitación de cromatina.  c) Doble sistema de ensayo indicador de luciferasa para determinar actividad transcripcional.	a) BPA ↑ la expresión del gen HOTAIR. Cuando se trata con BPA y E2 se produce una disminución de la inducción.  b) En presencia de BPA, los ERs y sus reguladores como MLL1 y MLL3 se unen a EREs, modificando la cromatina y provocando la activación del gen.  c) EREs están inducidos por BPA.	Bhan et al., 2014
OVCAR3	* 40 nM  * 3, 6 y 24 h  * Leptina 2'5 nM	Determinar la expresión y actividad de la caspasa 3.	a) Q-PCR para medir la expresión genética de caspasa 3, survivin ,JAK/STAT, MAPK/ERK1/2, y PI3K/Akt.  b) Western blot para medir la expresión proteica de caspasa 3 y survivin.  c) Ensayo de Fluorometría para medir la actividad de caspasa 3.	a) BPA inhibe la caspasa 3 actuando sobre ERK1/2 y la leptina actuando sobre STAT3.  b) BPA + Leptina ↓ la expresión proteica de caspasa 3. La proteína survivin no se ve afectada.  c) BPA + Leptina inhiben la actividad de caspasa 3.	Ptak et al., 2013.

HeLa SiHa C-33 <sup>a</sup>	* 10 <sup>-6</sup> - 10 <sup>-9</sup> M * 24, 48 y 72 h	Estudiar la migración de células cervicales cancerosas.	a) Ensayo Wound healing (migración celular). b) Western blot para determinar proteínas relacionadas con la migración celular: FN y MMP-9 y niveles de NF-K β, BAY 11-7082. c) Doble sistema de ensayo indicador de lucifera para determinar la actividad transcripcional.	a) y b) 10 <sup>-9</sup> M de BPA promueve la invasión y la migración celular. b) 10 <sup>-8</sup> M de BPA ↑ la expresión de proteínas FN y MMP de manera dependiente del tiempo. BPA ↓ BAY 11-7082 (inhibidor de NF-KB). c) BPA ↑ fosforilación de IκBα y p65 → ↑ actividad de NF-K β.	Ma et al., 2015.
X-01	* 1x10 <sup>-6</sup> - 1x10 <sup>-9</sup> M * 10 días * E2 10 <sup>-9</sup> M	Estudio de la diferenciación y formación de las células epiteliales mamarias.	a) Medición de marcadores moleculares de células pluripotentes mamarias epiteliales mediante: Microscopio confocal, y de transmisión junto a ensayo de Western Blot.	a) BPA promueve el crecimiento de las células de la glándula mamaria. BPA → ↓ expresión proteína E-cadherin. BPA + E2 → ↑ área celular de la glándula mamaria, ↑ expresión proteica de Oct 4, ↑ expresión proteínas Nanong.	Yang et al., 2013
HOSEpiC SKOV-3 OVCAR-3	* 1,40,100 nM * 3- 48 h * E2 0'1, 10, 20 nM	Determinar expresión de VEGF-R2 y VEGF-A.	a) Q-PCR para medir la expresión genética de VEGF-R2 ,VEGF-A y ERα ERβ. b) Western blot para medir la expresión proteica de VEGF-R2,VEGF-A y ERα ERβ. c) Ensayo colorimétrico para medir niveles de VEGF-A.	a) b) y c) La expresión de ERβ es similar en las dos líneas celulares, pero ERα es mayor en SKOV-3. BPA + E2 → ↑ VEGF-R2 en células no cancerosas y no afecta a VEGF-A. BPA → ↑ Expresión y secreción de VEGF-R2 y VEGF-A en células cancerosas.	Ptak et al., 2015.
Células primarias del trofoblasto	* 0'1, 0'25, 0'5, 1, 2 μg/ml * 24 h	Estudiar la expresión de los genes que codifican las hormonas y factores precedentes a la placenta.  También se va a medir mRNA de otros factores y hormonas destacadas.	a) AlamarBlue-Cell Viability Reagent (morfología y viabilidad celular) b) Ensayo estándar radiométrico mide la actividad de 11β-HSD2. c) Western blot, para medir los niveles de 11β-HSD2, aromatasa y CRH. d) Q-PCR para medir niveles de 11β-HSD2 mRNA, leptina mRNA. e) Inmunoensayo por micropartícula para determinar la concentración de hCG.	a) BPA no afecta a la viabilidad ni a la morfología de la célula. b) BPA ↑ niveles de actividad de 11β-HSD2. c) BPA ↑ niveles de proteína 11β-HSD2, ↑ niveles de aromatasa y ↑ CRH. d) BPA ↑ niveles de 11β-HSD2 mRNA y ↓ leptina mRNA. e) El BPA ↑ niveles hCG.	Rajakumar et al., 2015.
N2A SK-N-AS 3T3-L1	* >10 μM * 48 y 72 h	Determinar la metilación del ADN y la diferenciación de adipocitos.	a) HPLC y PCR  b) Citometría de flujo para cuantificar la diferenciación mediante los porcentajes de adipocitos en 3T3-L1.	a) En células N2A: a 10 μM de BPA, ↓ metilación ADN. En células 3T3-L1: a 50 μM de BPA ↑ metilación de ADN. b) ↑ Diferenciación de adipocitos cuando la concentración de BPA es 50 μM.	Sales et al., 2013.

Células endometriales estromales	* 1 nM * 24 y 48 h	Estudio del endometrio.	a) Determinación de concentración de la hormona gonadotropina coriónica y el factor inhibidor de la migración de macrófagos mediante un ensayo inmunoenzimático. b) GC- MS para la determinación del BPA.	a) El BPA estimula la liberación de la hormona gonadotropina coriónica y el factor inhibidor de la migración de macrófagos. Este efecto es menor en las células de la placenta. b) Las células endometriales retienen BPA.	Mannelli et al., 2015.
Células de la placenta	* 0.5 nM * 24 y 48 h				
Ku70 <sup>+/+</sup> Ku70 <sup>-/-</sup>	* 150 µM * 1 y 24 h	Analizar la reparación por escisión de bases en ADN dañado por oxidación inducida.	a) CM-H2 DCFDA (niveles de ROS). b) GC-MS para identificar y cuantificar las bases del ADN modificadas. c) Inmunofluorescencia.	a) BPA ↑ ROS. b) BPA + KBrO3 ↑ lesiones oxidativas del ADN. BPA + KBrO3 ↓ la señalización de la hebra rota. c) BPA suprime la reparación de las lesiones inducidas por KBrO3 y los intermediarios de reparación. BPA ↓ el reclutamiento de XRCC1 y la acumulación de PAR se redujo.	Gassman et al., 2012.
Linfocitos periféricos bovinos	* 1x10 <sup>-4</sup> - 1x10 <sup>-7</sup> mol.L <sup>-1</sup> * 48 h	Efectos genotóxicos y citotóxicos.	a) Cuantificación de micronúcleos. b) Cálculo del índice de división nuclear (IDN).	a) ↑ número micronucleos cuando la concentración de BPA es 1x10 <sup>-4</sup> mol.L <sup>-1</sup> . b) BPA no afecta al IDN a ninguna concentración.	Sutiaková et la., 2014.
FRTL-5	* 10 <sup>-4</sup> – 10 <sup>-9</sup> M * 1 y 3 días	Estudio de la expresión de genes involucrados en la síntesis y transcripción de hormonas tiroideas.	a) Ensayo MTT (viabilidad celular). b) Q-PCR para determinar la expresión de tiroglobulina, factores de transcripción del tiroides (Pax8, Nkx2-2 y Foxe 1), NIS, TSH-receptor, peroxidasa tiroidea (TPO).	a) No hay alteración de la viabilidad celular a ninguna concentración de BPA estudiada. b) BPA 10 <sup>-4</sup> M durante 1 día: ↑ los niveles de transcripción de tiroglobulina, Pax8, Nkx2-2 y Foxe 1. BPA 10 <sup>-9</sup> M y 10 <sup>-8</sup> M durante 1 día: ↑ niveles de expresión de NIS, TSH-receptor y TPO. BPA 10 <sup>-4</sup> M durante 1 día: ↑ NIS, TSH-receptor. Cuando la exposición es de 3 días solo se altera el nivel de tiroglobulina para todas las concentraciones.	Gentilcore et al., 2013
Tejido adiposo humano: *de mama *subcutáneo abdominal *subcutáneo de individuos con obesidad mórbida.	* 0.1, 1, 10, 100 nM * 6 h * E2 0.1, 1, 10, 100 nM	Determinar la secreción de la adiponectina en el tejido adiposo y los efectos en la maduración de adipocitos aislados.	a) Ensayo de inmunoadsorbancia por ELISA para determinar los niveles de adiponectina. b) Q-PCR para determinar niveles de expresión de ERα, ERβ, GPR30, ERRα, ERRβ, y ERRγ en el tejido adiposo.	a) BPA (0,1 y 1 nM) suprime la liberación de adiponectina en todos los tejidos adiposos. E2 es menos efectivo que el BPA en esta supresión a las mismas concentraciones que el BPA. b) BPA es más efectivo que E2. GPR30,ERRα y ERRβ ↓ su expresión Los niveles de mRNA de ERα, ERβ y ERRγ son similares en el grupo control y expuestos pero los niveles de GPR30, ERRα, ERRβ son mucho más inferiores en expuestos a BPA.	Hugo et al., 2008.
Espermatozoides de toros	* 1, 10, 100, 200 µg mL <sup>-1</sup> * 6 y 24 h	Determinar la movilidad, viabilidad y producción de radicales superóxido en espermatozoides.	a) CASA System (movilidad). b) Ensayo MTT (viabilidad celular). c) Test NBT ( radicales superóxido).	a) Movilidad ↓ en concentraciones > 100 µg mL <sup>-1</sup> a las 24 h. b) Viabilidad decrece en todos los ensayos, pero esto es mayor cuando la concentración de BPA es de 200 µg mL <sup>-1</sup> durante 24 h. c) Cantidad de radical superóxido ↑ en todas los experimentos, pero es estadísticamente significativo cuando la concentración es > 100 µg mL <sup>-1</sup> BPA	Lucacova et al., 2015.

Miocitos ventriculares de ratones <i>Sprague-Dawley</i> hembras y machos.	* 10 <sup>-9</sup> y 2x10 <sup>-9</sup> M * 2-7 minutos * E2 10 <sup>-9</sup> y 2x10 <sup>-9</sup> M	Estudio del efecto arritmogénico y mecanismo celular de los estrógenos.	a) Electrocardiograma para determinar el efecto arritmogénico.  b) Análisis del tránsito de Ca <sup>2+</sup> en miocitos.	a) BPA 10 <sup>-9</sup> M desencadena arritmias. BPA + E2 → ↑ efectos. Una estimulación de catecolamina, BPA y E2 provocan arritmias en corazones de ratones hembras, pero no en machos.  b) BPA y E2 alteran el transporte de calcio: ↑ el retículo sarcoplasmático, ↑ concentración de Ca <sup>2+</sup> en el retículo sarcoplasmático.	Yan et., 2011.
---	--	---	---	---	----------------

**MCF7:** Línea celular con adenocarcinoma mamario, positiva para los receptores estrogénicos **T47D:** Línea celular con carcinoma ductal mamario, positiva para los receptores estrogénicos **MDA-MB-231:** Línea celular con adenocarcinoma de las células mamarias, negativa para los receptores estrogénicos **E2:** Estradiol **Q-PCR:** Método de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real **ChIP:** Ensayo de Inmunoprecipitación de cromatina **Era / Erβ:** Tipos de receptores de estrógenos **MLL:** Metilasa de histonas **MLL1:** Histona metiltransferasa 1 **MLL3:** Histona metiltransferasa 3 **OVCAR3:** Línea celular carcinoma ovario **JAK/STAT:** Vía de señalización intracelular **MAPK/ERK:** Ruta de proteínas quinasas activadas por mitógenos **PI3K/Akt:** Vía de señalización fosfatidilinositol 3-kinasa **STAT3:** Factor de transcripción **HeLa, SiHa y C-33:** Líneas celulares con carcinoma cervical **FN:** Fibronectina **MMP-9:** Matriz metaloproteína 9 **NF-κβ:** Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células β **BAY 11-7082:** Factor inhibidor de NF-κβ **IkBα:** Factor inhibidor de NF-κβ **p65:** Factor de transcripción **X-01:** Línea celular de células madre embrionarias humanas **HOSEpic:** Línea celular de células humanas no cancerosas **SKOV-3:** Línea celular carcinoma ovario **VEGF-R2:** Receptor del factor de crecimiento vascular endotelial 2 **VEGF-A:** Factor de crecimiento vascular endotelial A **mRNA:** Ácido ribonucleico mensajero **11β-HSD2:** Corticosteroides isoenzima 11-β-deshidrogenasa 2 **hCG:** Hormona gonadotropina corionica humana **CRH:** Hormona liberadora de corticotropina **N2A:** Células del neuroblasto de ratones *Murinae* **SK-N-AS:** Células del neuroblastoma humanas **3T3-L1:** Fibriloblastos preadipocito de ratones *Murinae* **ADN:** Ácido desoxirribonucleico **HPLC:** Cromatografía líquida de alta eficacia **AP-PCR:** Técnica PCR con oligonucleótidos arbitrarios **GC- MS:** Cromatografía

**Tabla 3:** Estudios de toxicidad “in vivo” de BPA

CÉLULAS	DOSIS TIEMPO VIA DE ADMINISTRACIÓN	OBJETIVO	MÉTODO/ENSAYO	EFECTO/RESULTADOS	REFERENCIA
Glándulas mamarias de ratones <i>Sprague-Dawley</i> (hembra)	* 25 µg/kg pc * DES 5 µg/kg pc * Estradiol 5 µg * 28 H * Inyección	El BPA en la expresión del gen HOTAIR	a) Q-PCR	a) BPA y DES inducen la expresión de el gen HOTAIR. BPA + DES + Estradiol: disminución de la inducción de la expresión de HOTAIR.	Bhan et al., 2014
Ratones <i>Sprague Dawley</i> (hembras)	* 25 µg/kg pc/día * Estradiol 5 µg/kg pc/día * 24 h * Inyección	El BPA en la expresión del gen HOXC6.	a) Q-PCR para medir la expresión del gen HOXC6.  b) Western blot para medir los niveles de proteínas relacionados con el gen HOXC6.	a) y b)  Estradiol ↑ la expresión de HOXC6 BPA ↑ expresión del gen HOXC6 BPA + Estradiol ↑ expresión del gen HOXC6	Hussain et al., 2015
Ratones BALB/cA (1)  Ratones no diabéticos NOD/ShiLtJ (2)  Embriones de pollo spp <i>Gallus gallus</i> (3)	*(1) 10, 100 mg/L (2) 0.1, 1, 10 mg/L (3) 0.23 mg/kg  * 12 meses * Oral	Estudio del neurodesarrollo del cerebelo.	a) Inmuntinción.  b) Western blot.	a) BPA induce un aumento en el espesor de la parte externa de la capa de gránulos en las tres especies analizadas.  b) BPA ↑ el nivel total de el gen Pax6 a los 11 días de vida de los ratones descendientes. El nivel de Pax6 también aumenta en el cultivo de gránulos del cerebelo en el día 6 , en los embriones de pollo.	Mathisen et al., 2013
Ratones Adultos (hembra)	* 0'5, 50 mg/kg pc/día * 21 días * Inyección	Analizar el tejido hepático dañado.	a) Microscopio de alta resolución para examinar el tejido del hígado.  b) Espectrofotometría para medir la actividad de los enzimas antioxidante (SOD, CAT, GPX).	a) Degeneración vacuolar en los hepatocitos, ampliación de las sinusoides sanguíneas, hepatocitos hinchados, necrosis hepatocítica y aparición de núcleos picnoticos.  b) ↓ Actividad de CAT, SOD y GPX.	Eid et al., 2015



			<p>c) Niveles de biomarcadores de estrés (MDA y NO).</p> <p>d) Capacidad antioxidante total (Koracevic et al., 2001)</p> <p>e) Daño en DNA: SCGE.</p>	<p>c) ↑ MDA y NO.</p> <p>d) La capacidad antioxidante total disminuye.</p> <p>e) mayor rotura de las cadenas de ADN induciendo una mayor migración del ADN fuera del núcleo del tejido hepático.</p>	
Ratones C57BL/6J (hembra)	<p>* 3000 mg/kg pc/día</p> <p>* 5 semanas</p> <p>* Oral</p>	Estudio de cambios en la metilación del ADN en el hígado.	<p>a) HPLC : metilación del ADN total.</p> <p>b) Análisis del genoma completo.</p>	<p>a) El análisis global de la metilación del ADN no muestra ningún cambio entre expuestos y grupos control.</p> <p>b) No hay diferencias entre el grupo control y los expuestos.</p>	Van Esterik et al., 2015
Ratones C57BL/6J (hembras y machos)	<p>* 0-3000 µg/kg pc/día</p> <p>* 4 semanas y 6 días</p> <p>* Oral</p>	Perfil metabólico en descendientes expuestos durante la gestación y la lactancia.	<p>a) Test de tolerancia a la glucosa.</p> <p>b) Examen de la actividad locomotora.</p> <p>c) Examen histopatológico para cuantificar el tejido adiposo blanco (TAB) y marrón (TAM), y calcular el número de adipocitos.</p> <p>d) Análisis químico de plasma para medir niveles de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, ácidos grasos libres, adiponectina, grelina, leptina, glucagón, insulina, péptido pancreático (PYY-36).</p> <p>e) GC-MS: cuantificar el BPA de los expuestos a &gt;300 µg/kg pc/día.</p> <p>f) Q-PCR, se va a medir la expresión de los genes ucpl.</p> <p>g) Medición peso corporal y peso hígado.</p>	<p>a) No hay diferencias entre el grupo de descendientes-control y los descendientes-expuestos.</p> <p>b) ↑ Actividad física en el grupo de descendientes-expuesto hembras y ↓ en machos.</p> <p>c) TAB ↓ en descendientes-expuestos hembras. TAM ↑ en descendientes-expuestos machos y ↓ en hembras. El número de adipocitos no refleja diferencias en sexo, ni entre grupo control y expuestos.</p> <p>d) En descendientes-expuestos machos ↓ glucagón- En descendientes-expuestos hembras ↓ ácidos grasos libres, triglicéridos, adiponectina y leptina.</p> <p>e) Concentraciones &gt; 300 µg/kg pc/día: valores de 83-240 ng/ mL suero de BPA Concentraciones de 300 µg/kg pc/día: valores de 24-26 ng/ mL suero de BPA</p> <p>f) ↑ ucpl conforme ↑ la dosis de BPA en descendientes hembras.</p> <p>g) En descendientes-expuestos ↑ peso corporal y peso del hígado.</p>	Van Esterik et al., 2014
Ratones CD1 (machos)	<p>* 0-5000 µg/kg pc/día</p> <p>* 8 meses</p> <p>* Oral</p>	Analizar marcadores hepáticos y de plasma relacionados con el metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos.	<p>a) Monitorización del peso corporal, del peso del hígado, y del TAB.</p> <p>b) Análisis parámetros bioquímicos en plasma.</p> <p>c) Test de tolerancia a la glucosa intraperitoneal.</p>	<p>a) No hay diferencias entre los expuestos y el grupo control en cuanto al peso corporal y hepático, pero en los expuestos ↑ TAB.</p> <p>b) ↑ Glucosa, colesterol total, HDL y LDL en expuestos. La insulina, ASAT y ALAT no presentan ninguna alteración.</p> <p>c) ↓ Tolerancia a la glucosa en los expuestos a 5000 µg/kg pc/día de BPA.</p>	Marmugi et al., 2014

			<p>d) Q- PCR: Cuantificación de la expresión de genes involucrados en el metabolismo de lípidos, colesterol e hidratos de carbono.</p> <p>e) CG: contenido de lípidos en el hígado</p>	<p>d) Metabolismo HDC: ↓ glucoquinasa y piruvato quinasa, en expuestos. Metabolismo lipídico: aumento del ácido graso sintasa, gen SPOT14 sensible a la hormona tiroidea, esteroil coenzima A desaturasa, y fosfolipasa-patatina 3. Metabolismo colesterol: incremento de la expresión genes que participan en la síntesis de colesterol: HMG-coenzima A reductasa, mevalonato disfosfato descarboxilasa, escualeno epoxidasa, lanosterol sintasa, y del citocromo P450.</p> <p>e) ↑ Contenido total de lípidos en el hígado.</p>	
Ratones F344 (hembras)	<p>* 0'025, 0'25, 2'5 mg/L</p> <p>* Dosis Fructosa (5%)</p> <p>* 10 semanas</p> <p>* Oral</p>	<p>Investigar si la exposición prenatal y posnatal de BPA en combinación con carbohidratos, afecta a la masa grasa y al contenido de grasa en el hígado.</p> <p>Medir el volumen y distribución del tejido adiposo, el contenido de grasa en el hígado y Apolipoproteína A en plasma.</p>	<p>a) Monitorización peso corporal</p> <p>b) Resonancia magnética de imágenes para evaluar la cantidad y distribución del tejido adiposo y el contenido de grasa en hígado.</p> <p>c) Disección y cuantificación del peso del hígado y de la grasa peri renal.</p> <p>d) Análisis bioquímico de colesterol y triglicéridos.</p> <p>e) Western Blot (análisis de apolipoproteína A en plasma).</p>	<p>a) No hay cambios significativos en el peso corporal.</p> <p>b) No hay diferencias en el volumen de tejido adiposo. El contenido de grasa en hígado es ↑ en los expuestos comparado con el grupo control.</p> <p>c) No se observan cambios significativos en el peso del hígado ni en el contenido de grasa perirrenal.</p> <p>d) El nivel de colesterol y triglicéridos no han sido alterados con la exposición del BPA.</p> <p>e) ↑ Apolipoproteína A.</p>	Rönn et al., 2013
Ratones CD1 (hembras)	<p>* 5, 50, 500,5000, 50000 µg/kg pc/día</p> <p>* 10 días</p> <p>* Oral</p>	<p>Examinar los efectos a largo plazo de la exposición durante el desarrollo, de BPA en relación con las enfermedades metabólicas, trabajando con un rango de dosis que abarcan; por encima de NOAL y por debajo de NOAEL.</p>	<p>a) Dos Test de tolerancia: a la glucosa y a la insulina.</p> <p>b) Medición del peso corporal y engería consumida.</p> <p>c) Escisión tejido graso renal y gonadal y evaluación del peso.</p> <p>d) Evaluación del peso del hígado y riñón.</p> <p>e) Recuento de células y medidas de diámetro celular para calcular el número de adipocitos y su volumen</p> <p>f) Radioinmunoensayo para medir niveles de insulina, leptina e adiponectina.en sangre.</p> <p>g) HPLC para medir el BPA no conjugado en suero del feto y la madre</p>	<p>a) La tolerancia a la glucosa disminuyó; mientras que para la tolerancia a la insulina no hubo cambios significativos.</p> <p>b) ↑ Peso corporal, y consumo de alimentos.</p> <p>c) El tejido graso renal, gonadal y total es mayor que en el grupo control.</p> <p>d) El peso del hígado es ↑ en expuestos al BPA, y el peso del riñón no muestra diferencias con el grupo control.</p> <p>e) El volumen y masa total de adipocitos aumentado.</p> <p>f) ↑ Leptina e insulina y ↓ adiponectina.</p> <p>g) El BPA en las madres es ↑ que en fetos.</p> <p>*La mayoría de estos efectos tienen lugar a concentraciones bajas de BPA, la concentración más alta no produce ningún efecto.</p>	Angle et al., 2013

Ratones Wistar (macho)	* 5 y 25 µg/kg/día * 105 días * Oral	Investigar la expresión de genes involucrados en la regulación central del eje hipotálamo-hipófisis – testicular ,la concentración de testosterona, estradiol, LH y FSH y la cantidad, actividad, integridad y morfología de los Espermias.	a) Hemocitómetro para la cuantificación de espermias. b) Quimioluminiscencia para evaluar la concentración de LH y FSH. c) Q-PCR para evaluar la expresión de Gnrhn, Lh, Esr2, Ar, Fshb y Esr1. d) Electroquimioluminiscencia para determinar concentraciones de testosterona y estradiol. e) Determinación de la actividad mitocondrial mediante el análisis de la actividad de citocromo C oxidasa. f) Microscopio para observar la morfología de los espermatozoides.	a) ↓ Producción esperma. b) ↓ LH y FSH. c) ↑ receptores hormonales de Gnrhn, Lh, Esr2, Ar, Fshb y ↓ Esr1. d) ↓ Testosterona y ↑ Estradiol. e) ↓ Actividad mitocondrial. f) ↑ espermatozoides defectuosos.	Wisniewski et al., 2015
Ratones Wistar (macho)	* 50 µg/kg pc/día * 24, 48 semanas * Oral	Investigar el estado de metilación del ADN y la expresión del PGC-1α en el tejido cardiaco. Determinar factores de transcripción involucrados en la expresión de PGC-1α y genes participativos en la función mitocondrial  Medición/Análisis de:  Presión arterial ,Cuantificación BPA, Función cardiaca, Histología del corazón, Función mitocondrial, Expresión del m-RNA y Metilación de PGC-1 α	a) Método Tail –cuff (presión de la sangre y ritmo cardiaco). b) Ecocardiografo (dimensión del ventrículo izquierdo, las paredes de este y las del septum intraventricular). c) CG-MS: cuantificar BPA total en plasma. d) Sistema Langenbdorff para evaluar la actividad celular de síntesis de ATP y la actividad mitocondrial respiratoria y el potencial de membrana mitocondrial. e) Evaluación de la función mitocondrial mediante un ensayo ATP kit luminométrico. f) Q-PCR para determinar expresión PGC-1α. g) Histología del corazón y mediante un microscópico electrónico de transmisión se observará la morfología.	a) Valores del ritmo cardiaco y presión sanguínea similares para expuestos y grupo control a las 24 semanas y a las 48 semanas. b) El ventrículo muestra una estructura normal y un alineamiento de miocitos normal para expuestos y grupos control a las 24 semanas y a las 48 semanas. c) 0,66 ± 0,15 nM BPA a las 24 semanas y 1,57 ± 0,33 nM BPA a las 48 semanas. d) Producción de ATP ↓, Disipación potencial membrana mitocondrial y disminuye la actividad mitocondrial respiratoria a las 24 semanas. A las 48 semanas se observa que una discapacidad de la función cardiaca. e) ↓ Función mitocondrial a las 24 y 48 semanas. f) ↓ Expresión de PGC-1α e inducción hipermetilación de PGC-1α a las 24 y 48 semanas, pero el efecto es más pronunciado a las 48 semanas. g) Hipertrofia del miocardio y ampliación de miocitos, esto indica; cardiomiopatía.	Jiang et al., 2015
Embriones del pez spp Danio Rerio	* 10-6– 10-8 M * 48 h * Oral	Investigar la expresión de genes específicos del tiroides.	a) Q-PCR para medir la expresión de genes específicos del tiroides.	a) ↑ La transcripción de tirpotropina a dosis de 10-5 M. ↑ expresión de pax8 a una dosis de 10-8 M ↑ Hormona estimulante de la tiroides (TSH) cuando la concentración es 10-8 M ↑ Tiroglobulina a las dosis 10-6– 10-8 M	Gentilcore et al., 2013

<p>Embriones del pez spp <i>Danio Rerio</i></p>	<p>* 1, 5, 15 µM * Comienza a las 6 h después de la fecundación y finaliza en diferentes tiempos según lo que se vaya a medir. * Oral</p>	<p>Evaluar los comportamientos motores, el crecimiento axonal y muscular de las motoneuronas espinales durante el desarrollo.</p>	<p>a) Evaluación de la locomoción. Se han analizado cuatro tipos de movimientos distintos (espontáneo, en respuesta a un toque, nadar espontáneamente y el nado en respuesta a una estimulación) a las 18-120 h de exposición. b) Ensayo de muerte celular a las 96 h de exposición. c) Evaluación producción de ROS a las 96 h de exposición. d) Medición del ADN dañado mediante un Ensayo cometa a las 96 h de exposición. e) Examen de teratogenicidad a las 96 h de exposición. f) Análisis morfométrico del crecimiento axonal.</p>	<p>a) Alteración del movimiento espontáneo, ↓ de la velocidad al nadar y de la respuesta al toque de estimulación. b) BPA produce muerte celular apoptótica. c) BPA induce la formación de ROS. d) BPA induce daño en el ADN. e) No hay efectos teratogénicos a ninguna concentración. f) BPA induce daño en el músculo esquelético axial en todas las concentraciones. El trastorno del crecimiento axonal de las motoneuronas primarias y secundarias solo ocurre cuando la concentración es 15 µM.</p>	<p>Wang et al., 2013</p>
<p>Ratones <i>Sprague-Dawley</i> (hembras)</p>	<p>* 40 mg/kg pc/día * 9 meses y 22 días * Oral</p>	<p>Ansiedad y neurocomportamiento.</p>	<p>a) Q-PCR. b) Prueba del campo abierto para detectar la conducta de ansiedad. c) Análisis electrofisiológico.</p>	<p>a) BPA ↑ DNMT1 mRNA junto con ↓ GAD67 mRNA en la amígdala basolateral. Este efecto se observa a los 45 días de exposición. b) DNMT1 media la disfunción de GABAérgico y esto provoca la ansiedad observada en los descendientes. c) BPA ↑ excitabilidad en la neurona postsináptica y esto provoca la alteración del comportamiento.</p>	<p>Zhou et al., 2013</p>

**BPA:** Bisfenol A **Q-PCR:** Método de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real **DES:** Dietilbesterol **ADN:** Ácido desoxirribonucleico **SOD:** Superóxido dismutasa **CAT:** Catalasa **GPX:** Glutación peroxidasa **MDA:** Malondialdehído **NO:** Óxido nítrico **SCGE:** Ensayo de electroforesis con microgeles **HPLC:** Cromatografía líquida de alta eficacia **TAB:** Tejido adiposo blanco **TAM:** Tejido adiposo marrón **GC-MS:** Cromatografía de gases y espectrometría de masas **HD:** Lipoproteína de alta densidad **LDL:** Lipoproteína de baja densidad **GAD67:** Glutamato descarboxilasa **ASAT:** Amino aspartato transferasa **ALAT:** Amino alanina transferasa **E2:** Estradiol **HDC:** Hidratos de carbono **ATP:** Adenosín trifosfato **NOAEL:** Nivel sin efecto adverso observable **HPLC:** Cromatografía líquida de alta eficacia **TSH:** Hormona estimulante de la tiroides **LH:** Hormona luteinizante **FSH:** Hormona foliculostimulante **GnRH:** Hormona liberadora de gonadotropina **GC-MS:** Cromatografía de gases y espectrometría de masas **ROS:** Especies reactivas de oxígeno **DNMT1:** Citosina 5 metiltransferasa 1

a BPA también aumenta la expresión del OCT4 y proteínas NANOG. Estas dos moléculas se han detectado en concentraciones superiores en células madre cancerígenas; por lo que la exposición a bajas dosis de BPA durante el proceso de diferenciación celular o formación de células mamarias epiteliales, altera la expresión de marcadores moleculares y aumenta la sensibilidad o el riesgo a padecer cáncer de mama.

Los tumores malignos estimulan la formación de vasos sanguíneos mediante la secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), proteína encargada del desarrollo de capilares sanguíneos. El BPA tiene un efecto estimulante en la expresión y secreción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y en su receptor (VEGF-R) a concentraciones nanomolares (1, 40 y 100 nM) en células ováricas cancerosas (SKOV-3 y OVCAR-3), pero no en células humanas no cancerosas (HOSEpiC), por lo que el BPA favorece el proceso de crecimiento y adaptación al organismo de los tumores (Ptak et al., 2015).

El peligro o la potencialidad de los efectos adversos para la salud de la mayoría de los disruptores endocrinos, incluyendo el BPA, se han visto cuando la exposición tiene lugar en estadios tempranos de la

vida, alterando los procesos de desarrollo, maduración y/o diferenciación celular. De ahí la importancia de centrar los efectos del BPA cuando la exposición tiene lugar en los primeros estadios de desarrollo del feto o en primeros estadios de embarazo.

El BPA es capaz de alterar el desarrollo de la placenta y consecuentemente promover complicaciones del embarazo y del feto. El trofoblasto, y más en concreto el sincitiotrofoblasto, son capas de la placenta encargadas de producir números factores de crecimiento, hormonas y enzimas importantes para el desarrollo del feto. Se ha visto que el BPA en concentraciones de 0,1 - 2 µg/mL en células primarias del trofoblasto aumenta los niveles de proteínas y de actividad de 3β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (11β-HSD2), compuesto clave para el correcto desarrollo y la maduración del feto. También se ha visto que dicha exposición, estimula la liberación de gonadotropina coriónica humana (hCG). Niveles altos de esta hormona se relacionan con complicaciones en el embarazo como puede ser un parto prematuro o una limitación del crecimiento del feto. (Rajakumar et al., 2015). El aumento de hCG también se ha visto en células endometriales estromales bajo una exposición de BPA de 1 nM, así como el aumento de los niveles del factor de inhibición de

la migración de macrogrados. El factor de inhibición es una citoquina proinflamatoria que asume un papel muy importante en el embarazo, las variaciones de sus niveles se asocian a abortos involuntarios y partos prematuros. La exposición a BPA puede alterar la función de la placenta y consecuentemente dar lugar a complicaciones del embarazo (Mannelli et al., 2015).

La exposición prenatal a BPA también altera procesos relacionado con la neurogénesis y por tanto, afecta el adecuado proceso del desarrollo cerebral. El factor de transcripción Pax6 es un compuesto esencial para el correcto desarrollo de las neuronas y sus niveles deben estar estrictamente regulados. Concentraciones relativamente bajas de BPA (0,23 – 10 mg/L) en diferentes modelos animales (Ratones BALB/cA y NOD/ShiLtJ y embriones de pollo spp *Gallus gallus*) aumentan los niveles de Pax6. Además se ha visto que el BPA induce un aumento en el espesor de parte más externa de las células granulosas del cerebelo. Por tanto, el BPA afecta a las neuronas granulares y consecuentemente puede perturbar el correcto desarrollo del cerebelo (Mathisen et al., 2013).

El BPA también ha sido relacionado, en números estudios con estrés oxidativo y con el consecuente daño del material genético. A concentraciones de 150 µM, aumenta los niveles de ROS y además es capaz de suprimir la reparación por escisión de bases en DNA dañado por oxidación, en cultivos celulares de fibroblastos de embriones de ratones (Ku70<sup>+/+</sup> and Ku70<sup>-/-</sup>) (Gassman y col., 2012).

Además, el BPA a concentraciones  $1 \times 10^{-4}$  mol/L, provoca un aumento en el número de micronúcleos, provocando una inestabilidad genética en el cultivo de linfocitos bovinos. El BPA tiene la capacidad de dañar el material genético y estudios muy recientes, confirman dichos efectos y lo califican como un agente genotóxico importante (Sutiaková et al., 2014).

Malonildialdehído (MDA) y óxido nitroso (NO) son biomarcadores que indican el nivel de estrés oxidativo, los valores de estas moléculas aumentan con la exposición de 0,5-50 mg/kg pc/día de BPA durante 20 días en ratones (Eid et al., 2015). Además, como en el caso anterior, el BPA es capaz de alterar los sistemas de reparación del ADN, en este caso el BPA disminuye la capacidad antioxidante total al disminuir la actividad de las enzimas antioxidantes en el tejido hepático (catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa). Los análisis y evaluaciones del daño del material genético muestran un aumento en la cadena de ADN rota (Eid et al., 2015). Sin embargo, cuando la dosis de BPA son superiores (3000 mg/kg pc/día) y la exposición es de mayor (5 semanas), los análisis del genoma no muestran cambios en la metilación del ADN, ni daños consecuentes de la exposición del BPA en el tejido hepático de ratones C57BL/6J (Van Esterik et al., 2015).

Por lo tanto, en algunos estudios se observa que la exposición a BPA, a dosis bajas produce daño en DNA, aumenta la producción de radicales libres y disminuye la efectividad de los mecanismos de defensa frente a estrés oxidativo.

Los efectos del BPA al sistema metabólico es uno de los campos más estudiados. Diversos estudios sugieren que la exposición a BPA altera el metabolismo o parámetros metabólicos de importante regulación, provocando enfermedades metabólicas, como pueden ser la obesidad, diabetes o el síndrome metabólico.

No se conocen en profundidad los mecanismos mediante el cual el BPA contribuye al desarrollo de enfermedades metabólicas, pero recientemente, se ha visto que las alteraciones producidas en el ADN pueden ser un punto de partida de la afectación. La predisposición genética y los contaminantes ambientales, capaces de alterar el genoma de la población, están teniendo un papel importante en la epidemiología de la diabetes, obesidad u otras enfermedades metabólicas.

Existen muchos genes implicados en el desarrollo de enfermedades metabólicas, por ello muchos autores analizan el estado de

metilación del ADN, así como otros parámetros genéticos para investigar los efectos epigenéticos del BPA y relacionarlos con distintos efectos a nivel metabólico observados. Se ha visto que la exposición de BPA a concentraciones menores de 10 µM en células preadipocitarias de ratones *Murinae*, aumenta los niveles de metilación del ADN y aumenta la diferenciación de adipocitos. Esto se traduce a una mejora en el proceso de adipogénesis y un aumento en la probabilidad de desarrollar obesidad (Sales et al., 2013).

Por otra parte, también se ha relacionado el BPA con alteraciones metabólicas por su capacidad de alterar la secreción de adiponectinas. Las adiponectinas son moléculas secretadas por el tejido adiposo que se encargan de la regulación del metabolismo energético y por tanto, protegen al organismo del desarrollo del síndrome metabólico. Se ha analizado la liberación de adiponectina en distintos tipos de tejido adiposo humano (subcutáneo abdominal, subcutáneo abdominal de pacientes con obesidad mórbida, y tejido adiposo mamario) bajo la exposición de concentraciones nanomolares de BPA (0,1 y 1 nM). El BPA inhibe la liberación de adiponectina en todos los tejidos adiposos, aumentando el riesgo de padecer enfermedades metabólicas (Hugo et al., 2008).

La alteración de parámetros bioquímicos en plasma también se ha relacionado con la exposición a BPA, como por ejemplo los niveles de colesterol y glucosa. El BPA es capaz de sobreexpresar los genes implicados en la biosíntesis del colesterol (HMG-CoA reductasa, mevalonato quinasa, lanosterol sintasa) y producir cambios en la homeostasia del este, favoreciendo la aparición de hipercolesterolemia. Se ha visto que los valores de colesterol total, HDL y LDL están aumentados en ratones adultos CD1 machos, que han sido expuestos a BPA (1-5000 µg/kg/día). Además también se ha observado que el BPA a estas concentraciones, disminuye la tolerancia a la glucosa, provocando hiperglicemia y aumentando así el riesgo de aparición de diabetes. Estos resultados se obtuvieron en ratones CD1 expuestos durante un periodo de 8 meses. Se observó además que la exposición durante la etapa adulta produce los mismos efectos que los de la exposición prenatal (Marmugi y col., 2014).

Angle y col. (2013) utilizaron el mismo modelo animal (ratones CD1), pero en este caso hembras embarazadas, expuestas a concentraciones de 5-5000 µg/kg/día de BPA. Los efectos observados en los descendientes fueron, el aumento del peso corporal, del peso del hígado, del tejido graso y del número de adipocitos. A nivel hormonal aumentaron los niveles de leptina y insulina y disminución de la adiponectina. Además la tolerancia a la glucosa también disminuyó. En el mismo estudio se observó si había cambios en cuanto a la energía consumida entre el grupo de expuestos al BPA y el grupo control; los resultados pusieron de manifiesto que aquellos ratones expuestos a BPA aumentaban el consumo de alimentos. Por otra parte, esta investigación también confirmó el comportamiento característico del BPA, ante las curvas dosis–efecto, ya que a concentraciones altas no se producen los efectos observados en concentraciones menores. Los resultados confirman que el BPA aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Angle et al., 2013).

Van Esterik y col., 2014, plantearon las posibilidad de que la exposición fetal de ratones C57BL/6JxFVB, a dosis consideradas no tóxicas, 3000 µg/kg/día BPA, durante la gestación y la lactancia, puede inducir al organismo a una mayor susceptibilidad o predisposición genética a desarrollar obesidad u otras enfermedades metabólicas a lo largo de la etapa adulta. Los resultados de su estudio confirmaron que el BPA produce efectos a nivel metabólico en los descendientes expuestos, se sugiere la posibilidad de que el BPA produzca una alteración en el fenotipo metabólico. También se observó que los efectos no son los mismo en hembras y que en machos, por tanto el BPA no puede ser una sustancia obesogénica. Los autores concluyeron que hay factores dependientes del sexo y elementos clave en la homeostasia energética que afectan y contribuyen al fenotipo resultante.

Se ha planteado la hipótesis de que la exposición al BPA junto a

carbohidratos afecta a la masa grasa y al contenido de grasa en hígado. Ratones hembra F344, embarazadas, expuestas a dosis de BPA de 0,025, 0,25, 2,5 mg/L en agua, junto con una concentración de fructosa del 5%, durante 10 semanas (Rönn et al., 2013). El peso corporal y el volumen de tejido de adiposo no mostraban diferencias entre expuestos y grupos control, tampoco se vio ninguna alteración del colesterol y triglicéridos en plasma. Se observó que el contenido de grasa en hígado aumento así como el valor de apolipoproteína A en plasma. El estudio no demostró una evidencia en referencia a que la exposición al BPA de ratones alimentados con fructosa afecta a la masa grasa, pero sí se ha demostrado que el BPA en combinación con fructosa induce la infiltración de grasa en hígado. Los autores señalan que los resultados obtenidos en el presente estudio, son consecuencia de la combinación del BPA y la fructosa, y que se debe tener en cuenta para futuras investigaciones, la exposición a BPA junto a componentes que están en nuestra alimentación diariamente (Rönn et al., 2013)

También se ha relacionado el BPA con la capacidad de irrumpir o interferir en la actividad tiroidea. Se han investigado la expresión de genes específicos del tiroides asociados a una exposición de BPA ( $10^{-4}$  –  $10^{-9}$  M) en células foliculares tiroideas (FRTL-5) y en modelos animales (embriones del pez spp *Danio Rerio*). Los resultados muestran que el BPA es capaz de inducir la expresión de genes involucrados en la síntesis de hormonas tiroideas (NIS, Tg, Tpo) y la proliferación de células tiroideas al incrementar el nivel del mRNA celular y sus reguladores, en los dos sustratos biológicos utilizados cuando la concentración de BPA es de  $10^{-4}$  M durante 1 día, y cuando la concentración es más baja ( $10^{-8}$  y  $10^{-9}$  M) aumentan más parámetros relacionados con la síntesis de hormonas tiroideas (receptores, factores de transcripción, etc) (Gentilcore et al., 2013).

El sistema reproductivo es susceptible a alteraciones causadas por diferentes tóxicos ambientales, incluyendo el BPA. En diferentes estudios se ha relacionado al exposición al BPA con la reducción de la fertilidad, el deterioro de la función sexual masculina, cambios en las concentraciones de hormonas sexuales y la reducción de la calidad de los espermias.

En los últimos años, el análisis de diferentes parámetros de los espermatozoides para determinar su estado y su funcionalidad, bajo la exposición de BPA, ha sido objeto de numerosas publicaciones. La viabilidad y la movilidad de los espermatozoides de crías de toros disminuyen cuando se exponen a concentraciones de BPA de 100 a 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  durante 24 horas. Además el BPA disminuye la actividad mitocondrial mediante el aumento en la formación de radicales superóxido, por lo que el BPA provoca diferentes efectos adversos en el sistema reproductivo masculino (Lucacova et al., 2015).

La producción de espermias y la concentración de testosterona, hormona luteinizante (LH) y hormona estimulante del foliculo (FSH) se han visto disminuidos debido a una exposición de 25  $\mu\text{g/kg}$  peso corporal, de en ratones *Wistar*, mientras que la concentración de estradiol ha aumentado. Además cuando se observa la morfología de los espermatozoides se observan irregularidades, y por tanto, un aumento de espermatozoides defectuosos. Por otra, parte también se han evaluado la expresión de diferentes genes involucrados en la regulación central del eje hipotálamo-hipófisis-testicular expuestos a BPA. Los análisis muestran un aumento en la liberación de los receptores de: la hormona gonadotropina, la hormona luteinizante y la hormona foliculo estimulante. También un aumento de los recetores estrogénicos y androgénicos. También se observa una disminución de la actividad mitocondrial. Los resultados muestran, que el BPA en una dosis considerada no toxica, pone en peligro la funcionalidad correcta del sistema reproductivo masculino y disrumpe a el eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal (Wisniewski et al., 2015)

El sistema cardiovascular también es susceptible a la exposición de BPA. La investigación del BPA en el desarrollo de cardiomiopatías

no está muy estudiada. Recientemente, un estudio realizado por Jiang y sus colaboradores (2015) reveló importantes resultados a cerca de las alteraciones producidas por el BPA en el tejido cardiaco. En este proyecto se utilizaron ratones *Wistar* machos, los cuales estuvieron sometidos a 50  $\mu\text{g/kg}$  peso corporal/día durante 48 semanas. La histología de los corazones de los expuestos muestra una hipertrofia en el miocardio y una ampliación de los miocitos, esto indica, cardiomiopatía y por lo tanto un posterior deterioro de la función cardiaca. Además se vio que la expresión de PGC-1 $\alpha$ , un importante regulador de la biosíntesis mitocondrial de musculo cardiaco, disminuyo sus valores y se produjo una inducción de su estado de metilación. Los autores plantean la hipótesis que las alteraciones a nivel cardiaco y la disminución de la función mitocondrial observada, está relacionada con la desregulación del gen PGC-1 $\alpha$ .

También se ha visto que, el BPA en concentraciones consideradas fisiológicas ( $10^{-9}$  M), desencadena actividades arritmogénicas en corazones de ratones *Sprague-Dawley* hembras, pero no en machos. También se ve alterado el transporte de calcio, provocando un aumento de los niveles de calcio en el retículo sarcoplasmático, y posibles trastornos cardiacos (Yan et al., 2011)

Por último, el BPA también provoca alteraciones a nivel neuronal. La morfología de las neuronas motoras primarias y secundarias, se ve afectada bajo una exposición de 15  $\mu\text{M}$  en embriones del pez spp *Danio Rerio*. Además la exposición a BPA a concentraciones menores (1-15  $\mu\text{M}$ ) altera la locomoción, ya que se ve perjudicado el movimiento espontáneo de los embriones, también decrece la velocidad al nadar y la respuesta a la estimulación. Las deficiencias observadas en la locomoción podrían relacionarse con el daño producido en la estructura del musculo esquelético (Wang et al., 2013).

Por otra parte, a nivel neuronal, también se ha visto que le BPA aumenta la excitabilidad de la neurona postsináptica, provocando una alteración el comportamiento de ratones *Sprague-Dawley* hembras, expuestas a 4 mg/kg peso corporal. Los análisis del genoma muestran una expresión estimulada de la enzima DNMT1 en la amígdala basolateral cuando se someten a los ratones a BPA. El incremento de DNMT1 es el responsable de los cambios en el neurocomportamiento, y de la aparición de síntomas de ansiedad y el mecanimos por el cual se produce parece estar relacionado con un a inhibición de la via gabaérgica. Por lo que el BPA puede tener efectos relacionados con la ansiedad (Zhou et al., 2013).

## Conclusiones

El BPA es un disruptor endocrino cuya fuente de exposición más importante es a través de la dieta, principalmente a través de los alimentos envasados. La autorización y utilización de BPA en la industria alimentaria se encuentra regulado a través del Reglamento 10/2011 del 14 de enero de 2011, en la que se establece que el límite de migración del envase al alimento es de un máximo de 0,6 mg/kg de alimento/día, mientras que la ingesta diaria tolerable establecida es de 4  $\mu\text{g/kg pc/ día}$ .

Los efectos producidos por el BPA se relacionan con cáncer, alteraciones en el desarrollo y a nivel neuronal, daño en el material genético por la producción de especies reactivas de oxígeno, enfermedades metabólicas y cardiovasculares, así como con alteraciones en el sistema reproductor, relacionadas la mayoría, con la afectación de la fertilidad. Según el informe de la EFSA realizado en el 2015, la dosis de exposición diaria de la población, no presenta riesgo para la población; sin embargo, pueden observarse consecuencias más acusadas en población sensible y expuesta durante gestación y lactancia.

## Bibliografía

1. Angle BM, Do R.P, Ponzi D, Stahlhut R.W, Drury B.E, Nagel S.C, Welshons W.V, Besch-Williford C.L, Palanza P, Parmigiani S, Vom Saal F.S, & Taylor J.A, 2013. Metabolic disruption in male

- mice due to fetal exposure to low but not high doses of bisphenol A (BPA): Evidence for effects on body weight, food intake, adipocytes, leptin, adiponectin, insulin and glucose regulation. *Reproductive toxicology*.42:256-268.
2. Alonso-Magdalena P, Ropero AB, Soriano S, García-Arévalo M, Ripoll C, Fuentes E & Nadal Á, 2012. Bisphenol-A acts as a potent estrogen via non-classical estrogen triggered pathways. *Molecular and cellular endocrinology*.355:201-207.
  3. Bhan A, Hussain I, Ansari K.I, Bobzean S.A, Perrotti L.I, & Mandal S.S, 2014. Bisphenol-A and diethylstilbestrol exposure induces the expression of breast cancer associated long noncoding RNA HOTAIR in vitro and in vivo. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*:141:160-170.
  4. Bhan A, Hussain I, Ansari K.I, Bobzean S.A, Perrotti L.I, & Mandal S.S, 2014. Bisphenol-A and diethylstilbestrol exposure induces the expression of breast cancer associated long noncoding RNA HOTAIR in vitro and in vivo. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*:141:160-170.
  5. Braun JM & Hauser R, 2011. Bisphenol A and children's health. *Current opinion in pediatrics*.23:233-239.
  6. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT & Gore AC, 2009. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine reviews*.30:293-342.
  7. Dodds EC & Lawson W, 1936. Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*.137:996.
  8. Eid J.I, Eissa S.M, & El-Ghor A.A, 2015. Bisphenol A induces oxidative stress and DNA damage in hepatic tissue of female rat offspring. *The Journal of Basic & Applied Zoology*.71:10-19.
  9. FitzGerald RE & Wilks MF, 2014. Bisphenol A- Why an adverse outcome pathway framework needs to be applied. *Toxicology letters*.230:368-374.
  10. Flint S, Markle T, Thompson S & Wallace E, 2012. Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *Journal of environmental management*.104:19-34.
  11. Gassman NR, Coskun E, Stefanick DF, Horton JK, Jaruga P, Dizdaroglu M & Wilson S.H. Bisphenol A promotes cell survival following oxidative DNA damage in mouse fibroblasts. *PloS one* [serial online] 2012;011e819. Internet: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0118819> (acceso 18 de Febrero de 2015).
  12. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Goeyens L, Lecomte P, Maghuin-Rogister G, Pironnet AM, Pussemier L, Scippo ML & Covaci A, 2012. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and chemical toxicology*, 50:3725-3740.
  13. Gentilcore D, Porreca I, Rizzo F, Ganbaatar E, Carchia E, Mallardo M, Felice M, & Ambrosino C,2013. Bisphenol A interferes with thyroid specific gene expression. *Toxicology*.304:21-31.
  14. Gentilcore D, Porreca I, Rizzo F, Ganbaatar E, Carchia E, Mallardo M, Felice M, & Ambrosino C,2013. Bisphenol A interferes with thyroid specific gene expression. *Toxicology*.304:21-31.
  15. Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW & Ben-Jonathan N,2008. Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environ Health Perspect*.116:1642-1647.
  16. Hussain I, Bhan A, Ansari KI, Deb P, Bobzean SA, Perrotti LI, & Mandal, SS, 2015. Bisphenol-A induces expression of HOXC6, an estrogen-regulated homeobox-containing gene associated with breast cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Gene Regulatory Mechanisms*.1849:697-708.
  17. Hussain I, Bhan A, Ansari KI, Deb P, Bobzean SA, Perrotti LI, & Mandal, SS, 2015. Bisphenol-A induces expression of HOXC6, an estrogen-regulated homeobox-containing gene associated with breast cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Gene Regulatory Mechanisms*.1849:697-708.
  18. Jiang Y, Xia W, Yang J, Zhu, Y, Chang, H, Liu J, Huo W, Xu B, Chen X, Li Y, Xu S, 2015. BPA-induced DNA hypermethylation of the master mitochondrial gene PGC-1 $\alpha$  contributes to cardiomyopathy in male rats. *Toxicology*.329:21-31.
  19. Lorber M, Schechter A, Paepke O, Shropshire W, Christensen K & Birnbaum L, 2015. Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environment international*.77:55-62.
  20. Lucacova J, Jambor T, Knazixka Z, Tvrda E, Kolesarova A & Lukac N, 2015. Dose- and time-dependent effects of bisphenol A on bovine spermatozoa in vitro. *Environmental Science and Health*.50:669-676.
  21. Ma XF, Zhang J, Shuai HL, Guan BZ, Luo X, & Yan RL, 2015. IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B mediated the low doses of bisphenol A induced migration of cervical cancer cells. *Archives of biochemistry and biophysics*.573:52-58.
  22. Mannelli C, Ietta F, Carotenuto C, Romagnoli R, Szostek AZ, Wasniewski T, Skarzynski DJ & Paulesu, L, 2014. Bisphenol A Alters-hCG and MIF Release by Human Placenta: An In Vitro Study to Understand the Role of Endometrial Cells. *Mediators of inflammation*. 635364.
  23. Marmugi A, Lasserre F, Beuzelin D, Ducheix S, Huc L, Polizzi A, Chetivaux T, Martin P, Guillou H, Mselli-Lakhal L,2014. Adverse effects of long-term exposure to bisphenol A during adulthood leading to hyperglycemia and hypercholesterolemia in mice. *Toxicology, FALTA (manuscrito aceptado no indica n° paginas)*
  24. Mathisen G.H, Yazdani M, Rakkestad K.E, Aden P.K, Bodin J, Samuelsen M, Nygaard U.C, Goverud I.L, Gaarder M, Loberg E.M, Bolling A.K, Becher R, & Paulsen R.E,2013. Prenatal exposure to bisphenol A interferes with the development of cerebellar granule neurons in mice and chicken. *International Journal of Developmental Neuroscience*.31:762-769.
  25. Mileva G, Baker SL, Konkle A & Bielajew C, 2014. Bisphenol-A: epigenetic reprogramming and effects on reproduction and behavior. *International journal of environmental research and public health*.11:7537-7561.
  26. Moya J, Bearer CF & Etzel RA, 2004. Children's behavior and physiology and how it affects exposure to environmental contaminants. *Pediatrics*.113:996-1006.
  27. Orden PRE/628/2011, de 22 de marzo, por la cual se modifica el Anexo II del Real Decreto 866/2008, de 23 de mayo, por el que se aprueba la lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos y se regulan determinadas condiciones de ensayo. (BOE núm 72 , de 25 de marzo de 2011)
  28. Petzold S, Averbek M, Simon JC, Lehman I, Polte T, 2014. Lifetime-Dependent Effects of Bisphenol A on Asthma Development in an Experimental Mouse Model. *PLoS ONE* [serial online] 2014;9(6):e100468. Internet: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0100468> (acceso 20 de Junio de 2014)
  29. Ptak A & Gregoraszcuk EL, 2015. Effects of bisphenol A and 17 $\beta$ -estradiol on vascular endothelial growth factor A and its receptor

expression in the non-cancer and cancer ovarian cell lines. *Cell biology and toxicology*.31:187-197.

30. Ptak A, Rak-Mardyla A, & Gregoraszczyk, EL, 2013. Cooperation of bisphenol A and leptin in inhibition of caspase-3 expression and activity in OVCAR-3 ovarian cancer cells. *Toxicology in Vitro*.27:1937-1943.
31. Rajakumar C, Guan H, Langlois D, Cernea M & Yang K, 2015. Bisphenol A disrupts gene expression in human placental trophoblast cells. *Reproductive Toxicology*.53:39-44.
32. Real Decreto 866/2008, de 23 de mayo, por el cual se aprueba a lista de sustancias permitidas para la fabricación de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos y se regulan determinadas condiciones de ensayo. (BOE núm 131 de 30 de mayo de 2008)
33. Reglamento 10/2011, de 14 de enero, por el cual se aprueba la Norma de materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos.
34. Reglamento 321/2011, de 1 de abril, por el cual queda restringido el uso de bisfenol A en biberones de plástico para lactantes.
35. Rochester JR, 2013. Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive toxicology*.42:132-155.
36. Rönn M, Kullberg J, Karlsson H, Berglund J, Malmberg F, Örborg J, Lind L, Ahlström H, Lind P.M, 2013. Bisphenol A exposure increases liver fat in juvenile fructose-fed Fischer 344 rats. *Toxicology*.303:125-132.
37. Sales LB, Kamstra JH, Cenijn PH, Van Rijt LS, Hamers T & Legler J, 2013. Effects of endocrine disrupting chemicals on in vitro global DNA methylation and adipocyte differentiation. *Toxicology in vitro*.27:1634-1643.
38. Scientific Opinion of the Panel on Food additives, Flavourings, Processing aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to Bisphenol A. *EFSA Journal* 2006.428:1-75.
39. Scientific Opinion of the Panel on Food additives, Flavourings, Processing aids and Materials in Contact with Food (AFC). *EFSA Journal* 2008.759:1-10
40. 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* 2010.8:1829.
41. Scientific Opinion Statement on the ANSES reports on Bisphenol A. *EFSA Journal* 2011.9:2475
42. Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A(BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal* 2015.13:3978.
43. Summary and conclusions of the report on the health effects of bisphenol A - Reports on the health effects of bisphenol A and on the uses of bisphenol A
44. Sutiaková I, Kovalkovicová N, Sutiak V, 2014. Micronucleus assay in bovine lymphocytes after exposure to bisphenol A in vitro. *In vitro cellular & Developmental Biology-Animal*.50:502-506.
45. Van Esterik J.C.J, Vitins A.P, Hodemaekers H.M, Kamstra J.H, Legler J, Pennings J.L.A, Steengena W.T, Lute C, Jelinek J, Issa J.P.J, Dollé M.E.T, & van der Ven L.T.M,2015. Liver DNA methylation analysis in adult female C57BL/6JxFVB mice following perinatal exposure to bisphenol A. *Toxicology letters*.232:293-300.
46. Van Esterik J.C.J, Dollé MET, Lamoree MH, Van Leeuwen SPJ, Hamers T, Legler J, Van der Ven LTM, 2014. Programming of metabolic effects in C57BL/6JxFVB mice by exposure to bisphenol A during gestation and lactation. *Toxicology*.321:40-52
47. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJ, & Schoenfelder G, 2010. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environmental health perspectives*.1055-1070.
48. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR, Lee DH, Shioda T, Soto AM, Vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT, Myers DR, 2012. Hormones and Endocrine-Disrupting Chemicals: Low-Dose Effects and Nonmonotonic Dose Responses. *Endocrine Reviews*.33:378.
49. Vandenberg LN, Ehrlich S, Belcher SM, Ben-Jonathan N, Dolinoy DC, Hugo ER, Hunt PA, Newbold RR, Rubin BS, Sali KS, Soto A, Wang H & Vom Saal FS, 2013. Low dose effects of bisphenol A: An integrated review of in vitro, laboratory animal, and epidemiology studies. *Endocrine disruptors*. e26490.
50. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N & Welshons WV, 2007. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive toxicology*.24:139-177.
51. Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS & Soto AM, 2009. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine reviews*.30:75-95.
52. Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG & Dekant W, 2002. Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical research in toxicology*.15:1281-1287.
53. Völkel W, Bittner N & Dekant W, 2005. Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metabolism and Disposition*.33:1748-1757.
54. Wang X, Dong Q, Chen Y, Jiang H, Xiao Q, Wang Y, Li W, Bain C, Huang C & Yang D, 2013. Bisphenol A affects axonal growth, musculature and motor behavior in developing zebrafish. *Aquatic toxicology*.142:104-113.
55. Wisniewski P, Romano R.M, Kizys M.M.L, Oliveira K.C, Kasamatsu T, Giannocco G, Chiamolera M.I, Dias-da-Silva M.R,2015. Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Toxicology*.329:1-9.
56. Yan S, Chen Y, Dong M, Song W, Belcher SM & Wang HS, 2011. Bisphenol A and 17 $\beta$ -estradiol promote arrhythmia in the female heart via alteration of calcium handling. *PLoS one*.6:e25455.
57. Yang L, Luo L, Ji W, Gong C, Wu D, Huangb H, Liub O, Xiab B, Hub G, Zhangb Q, Liub J, Zhangc W & Zhuang Z, 2013. Effect of low dose bisphenol A on the early differentiation of human embryonic stem cells into mammary epithelial cells. *Toxicology letters*.218:187-193.
58. Zhou R, Chen F, Chang F, Bai Y & Chen L,2013. Persistent overexpression of DNA methyltransferase 1 attenuating GABAergic inhibition in basolateral amygdala accounts for anxiety in rat offspring exposed perinatally to low-dose bisphenol A. *Journal of psychiatric research*.47:1535-1544.
59. Margelefsky EL, Zeidan RK & Davis ME, 2008. Cooperative catalysis by silica-supported organic functional groups. *Chemical Society Reviews*, 37:1118-1126.
60. Hoban R, 2012. Scientists in the middle of the BPA debate. *Consumer News, Environmental health, featured public health*.
61. Munguia-Lopez EM, Gerardo-Lugo S, Peralta E, Bolumen S, & Soto-Valdez H, 2005. Migration of bisphenol A (BPA) from can coatings into a fatty-food simulant and tuna fish. *Food additives and*



contaminants. 22:892-898.

62. Loi N° 2012-1442 du 24 décembre 2012 visant à la suspension de la fabrication, de l'importation, de l'exportation et de la mise sur le marché de tout conditionnement à vocation alimentaire contenant du bisphénol A.
63. Matthews JB, Twomey K & Zacharewski TR, 2001. In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Chemical research in toxicology*.14:149-157