



---

---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

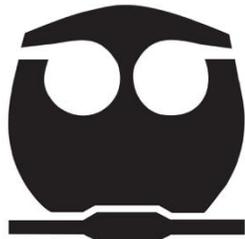
**“EFECTOS DE LOS DISRUPTORES ENDÓCRINOS  
BISFENOL A Y BISFENOL S EN EL PÁNCREAS”**

***Trabajo Monográfico de Actualización***

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

**PRESENTA  
DAFNE ALETHIA CASTELLANOS RUIZ**

**TUTOR  
Dra. CARMEN ADRIANA MENDOZA RODRÍGUEZ**



**Ciudad Universitaria, CD. MX. 2021**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

<b>Introducción</b> .....	7
<b>Objetivos</b> .....	8
<b>Hipótesis</b> .....	8
<b>Capítulo 1. Páncreas</b> .....	9
1.1 Generalidades.....	9
1.2 Morfología y fisiología.....	10
1.2.1 Páncreas exócrino.....	11
1.2.2 Páncreas endócrino.....	11
2.2.2.1 Células $\beta$ .....	12
2.2.2.2 Células $\alpha$ .....	14
2.2.2.3 Células $\delta$ , $\epsilon$ y PP.....	15
1.2.3 Organogénesis.....	16
2.2.3.1 Formación de los islotes de Langerhans.....	17
2.2.3.2 Maduración de las células endócrinas.....	18
1.3 Metabolismo.....	18
1.3.1 Liberación de Insulina.....	19
2.3.1.1 Secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS).....	20
1.3.2 Señalización de la insulina.....	21
1.4 Alteraciones del páncreas.....	22
1.4.1 Diabetes mellitus tipo 2.....	22
2.4.1.1 Proliferación de las células $\beta$ .....	23
2.4.1.2 Apoptosis de las células $\beta$ .....	24
1.4.2 Otras afecciones.....	25
<b>Capítulo 2. Disruptores endócrinos</b> .....	26
2.1 Generalidades.....	26
2.2 Hormonas y receptores esteroideos.....	27
2.2.1 Estrógenos.....	27
2.2.2 $17\beta$ -estradiol.....	28
2.2.3 Receptores ER $\alpha$ y Er $\beta$ .....	29
2.2.4 GPER.....	30
2.3 Bisfenol A.....	31
2.3.1 Estructura y características.....	31
2.3.2 Usos y vías de exposición.....	32
2.3.3 Efectos generales en la salud.....	33
2.3.3.1 Metabolismo.....	33
2.3.3.2 Efectos en humanos.....	33
2.3.3.3 Efectos en modelos animales.....	35
2.4 Bisfenol S.....	36
2.4.1 Estructura y características.....	36
2.4.2 Usos y vías de exposición.....	36
2.4.3 Efectos generales en la salud.....	37
2.4.3.1 Metabolismo.....	37
2.4.3.2 Efectos en humanos.....	38
2.4.3.3 Efectos en modelos animales.....	38
2.5 Otros derivados del bisfenol.....	39

<b>Capítulo 3. Efecto de los disruptores endócrinos en el páncreas</b> .....	41
3.1 El 17 $\beta$ -estradiol y la homeostasis de la glucosa e insulina .....	41
3.1.1 RE y las células $\beta$ .....	41
3.2 Efectos del BPA en el páncreas .....	42
3.2.1 Exposición directa (F0).....	42
3.2.1.1 Efectos en machos .....	42
3.2.1.2 Efectos en hembras .....	43
3.2.2 Efectos en la primera generación (F1).....	44
3.2.2.1 Epigenética: Efectos multi y transgeneracionales .....	44
3.2.2.2 Exposición en la gestación .....	45
3.2.2.3 Exposición en la gestación hasta el destete .....	46
3.2.2.4 Exposición en la gestación + largo plazo.....	47
3.2.2.4 Exposición neonatal.....	47
3.2.3 Efectos en la segunda y tercera generación (F2 y F3).....	47
3.3 Efectos de BPS en la homeostasis de la glucosa .....	48
3.4 Discusión.....	49
3.4.1 Los efectos de los DE son dependientes de distintos factores .....	49
3.4.2 Riesgo de diabetes y otras enfermedades metabólicas ...	51
<b>Conclusiones</b> .....	55
<b>Referencias</b> .....	56

## **Abreviaturas**

**Akt** Proteína kinasa B

**AR** Receptor de andrógenos

**ATP** Adenosín Trifosfato

**BPA** Bisfenol A

**BPS** Bisfenol S

**bZIP** Factores de transcripción básicos con cremalleras de leucinas

**cAMP** Adenosín Monofosfato cíclico

**DE** Disruptores endocrinos

**DG** Día gestacional

**E1** Estrona

**E2** 17 $\beta$ -estradiol

**E3** Estriol

**EFSA** Agencia Europea de Seguridad Alimentaria

**EPA** Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos

**F0** Generación 0 (progenitores)

**F1** Primera generación

**F2** Segunda generación

**F3** Tercera generación

**FFA** Ácidos Grasos Libres

**FSH** Hormona folículo estimulante

**GPGR** Receptor acoplado a proteína G

**GIP** Polipéptido insulínico dependiente de glucosa

**GLP-1** péptido 1 similar al glucagón

**GLUT** Transportador de glucosa

**GSIS** Secreción de insulina estimulada por glucosa

**GSK3** Glucógeno sintasa quinasa 3

**INS** Gen de la insulina

**INSR** Receptor específico de insulina

**IL-1  $\beta$**  Interleucina 1  $\beta$

**IRS** Sustratos del receptor de insulina

**LH** Hormona luteinizante

**LOAEL** Efecto observado más bajo

**MOMP** Membrana externa mitocondrial

**MPC** Células progenitoras multipotentes

**NADPH** Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

**NOAEL** Nivel en que no se observa efecto adverso

**OMS** Organización Mundial de la Salud

**Pdx1** homeobox 1 pancreático y duodenal

**PN** Día Posnatal

**PP** Polipéptido Pancreático

**Ptf1a** Factor de transcripción específico del páncreas 1

**RE** Receptor de estrógenos

**ROS** Especies reactivas de oxígeno

**SOP** Síndrome de ovario poliquístico

**T1DM** Diabetes mellitus tipo 1

**T2DM** Diabetes mellitus tipo 2

**TDI** Ingesta diaria tolerable

**t-TDI** Ingesta diaria tolerable temporal

**TNF** Factor de necrosis tumoral

## Introducción

Los disruptores endocrinos son sustancias o mezclas exógenas capaces de unirse a receptores hormonales alterando las funciones del sistema endócrino y, como consecuencia, causan efectos adversos en la salud de un organismo expuesto e incluso de su descendencia o subpoblación.

El bisfenol A (BPA) y sus derivados, tales como el bisfenol S, son compuestos disruptores endocrinos ampliamente usados en la industria plastificadora para la fabricación de envases de alimentos y bebidas. Por ello, debido a que están en contacto con alimentos, la ruta oral es la principal ruta expuesta a presentar daño. El BPA está asociado con muchas enfermedades, como obesidad, endometriosis y cáncer de seno, infertilidad y defectos de nacimiento (Choa et al., 2020) .

El páncreas es un órgano endócrino que secreta hormonas que regulan la concentración de glucosa en la sangre. Los islotes de Langerhans, el componente endócrino del páncreas, están dispersos por todo el órgano en la forma de grupos celulares de tamaño variable y contienen las células que secretan hormonas, como son las células  $\beta$  que secretan insulina y las células  $\alpha$  que secretan glucagón, cuyas alteraciones fisiológicas pueden llevar a afecciones como la diabetes tipo 2, enfermedad que ha aumentado durante las últimas décadas.

Es por ello que este proyecto se enfocó en búsqueda bibliográfica sobre los efectos de los disruptores endócrinos bisfenol A y bisfenol S en la homeostasis de la glucosa a partir de las afectaciones en el páncreas para saber si estos compuestos contribuyen significativamente al desarrollo de diabetes tipo 2 y la manera en que esto sucede.

## **Objetivos**

### Objetivos generales

- Realizar una investigación bibliográfica sobre los efectos de los disruptores endócrinos, en particular el BPA y el BPS, en la homeostasis de la glucosa en el órgano del páncreas.
- Discutir y concluir si los datos reportados podrían tener un efecto en la salud metabólica.

### Objetivos particulares

- Investigar las generalidades del páncreas en el metabolismo
- Recopilar información acerca de los disruptores endócrinos, en particular el BPA y el BPS
- Obtener información de los efectos reportados de los disruptores endócrinos BPA y BPS en la homeostasis de la glucosa y páncreas.
- Identificar los mecanismos por los que el BPA interactúa con las células  $\beta$  pancreáticas
- Mencionar los efectos que se podrían presentar en el páncreas después de una exposición a BPS y otros DE.
- Describir las razones por las que se presentaría el riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas, como la diabetes tipo 2, y si, a partir de los modelos utilizados, lo mismo podría ocurrir en humanos.

## **Hipótesis**

Los disruptores endócrinos, como el bisfenol A y el bisfenol S, contribuyen al desarrollo enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 a través de cambios en la homeostasis de la glucosa, dados a partir de afectaciones en el páncreas.

## Capítulo 1. Páncreas

### 1.1 Generalidades

El páncreas es una glándula ubicada retroperitonealmente en la cavidad abdominal (Barret, 2013), detrás del estómago y está conectado con el hígado, el bazo y el intestino delgado. Es fundamental para el control del consumo de energía y el metabolismo y está compuesto por dos componentes morfológica y funcionalmente distintos: el páncreas exocrino y el páncreas endocrino (Zhou *et al.*, 2018). Sus principales funciones son producir enzimas exocrinas y hormonas endocrinas (Jouvet *et al.*, 2017), las cuales son esenciales en el metabolismo sistémico de los nutrientes, ya que facilitan la digestión de los nutrientes y la posterior regulación de la homeostasis de la glucosa en sangre, respectivamente (Larsen *et al.*, 2017).

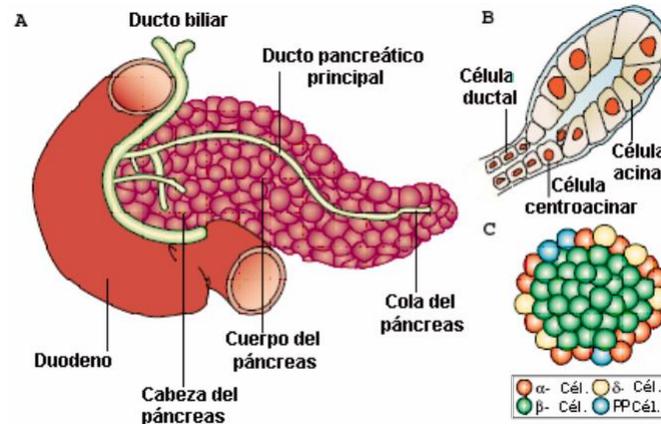
La función exocrina del páncreas la lleva a cabo alrededor del 98% de la masa pancreática y está compuesta por células acinares responsables de la síntesis (de enzimas, por ejemplo, lipasa y amilasa pancreáticas, fosfolipasa, nucleasas), así como del almacenamiento y secreción de enzimas digestivas en el duodeno (Husain *et al.*, 2009). La función endocrina del páncreas la lleva a cabo aproximadamente el 2% de su masa total, está formada por los islotes de Langerhans que contienen 5 tipos de células distintas: células alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ), delta ( $\delta$ ), epsilon ( $\epsilon$ ) y de polipéptido pancreático (PP) (Jouvet, 2017).

Avances recientes en el campo del estudio del metabolismo han reforzado su importancia para orquestar la secreción de hormonas endocrinas en respuesta a varios nutrientes que incluyen glucosa, lípidos y aminoácidos, además de hormonas y señales inflamatorias (Eizrik *et al.*, 2020).

Las células endocrinas, agrupadas en los islotes de Langerhans, median en la función reguladora del páncreas en la homeostasis de la glucosa al producir varias hormonas peptídicas que se secretan al torrente sanguíneo (Pan *et al.*, 2011). En particular, las células  $\beta$  productoras de insulina controlan la degradación de nutrientes y la producción de energía, siendo esenciales para mantener no solo una secreción hormonal eficiente, sino también la integridad celular, la supervivencia y la capacidad de detectar y adaptarse a entornos metabólicos cambiantes (Jouvet, *et al.*, 2017).

Aunque solo mide 10 cm de largo y pesa alrededor de 100 g, el páncreas es capaz de secretar alrededor de 1500 ml de líquido pancreático al día. Recibe un abundante riego sanguíneo de las ramas de la arteria celíaca y mesentérica superior, y el drenaje venoso se realiza a través de la vena porta. Además, está densamente

inervado por fibras simpáticas (de los nervios esplácnicos), fibras parasimpáticas (a través del nervio vago) y neuronas peptidérgicas (que estimulan la liberación de péptidos y aminos) (Cade *et al.*, 2017).



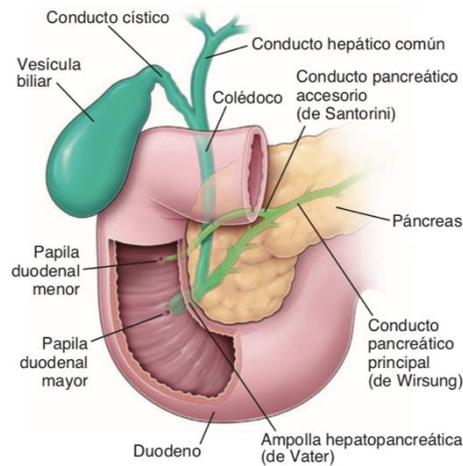
**Figura 1.** Anatomía del páncreas. A) Partes diferenciadas del páncreas adulto adyacente al duodeno. B) Acino pancreático y ducto pancreático formados por células acinarias y células ductales, respectivamente. C) Islote pancreático y tipos celulares endocrinos: células  $\beta$  (verde), células  $\alpha$  (rojo), células  $\delta$  (amarillo) y células PP (azul). (Edlund *et al.*, 2002).

## 1.2 Morfología y fisiología

El páncreas consta de una cabeza, un cuerpo y una cola. La cabeza es una porción expandida que se ubica en la curva con forma de C del duodeno y se une a este mediante el tejido conjuntivo. El cuerpo del páncreas atraviesa la línea media del cuerpo humano y la cola se extiende hacia el hilio del bazo. El conducto pancreático (de Wirsung) recorre toda la longitud de la glándula y desemboca en el duodeno a la altura de la ampolla hepatopancreática (de Vater), a través de la cual también se introducen en el duodeno el conducto biliar común (colédoco) y la vesícula biliar. El esfínter hepatopancreático (de Oddi) rodea a la ampolla y no sólo regula el flujo de la bilis y del jugo pancreático hacia el duodeno sino que también impide el refluo de los contenidos intestinales hacia el conducto pancreático. En algunas personas, está presente un conducto pancreático accesorio (de Santorini), que es un vestigio del origen del páncreas a partir de dos primordios endodérmicos embrionarios que se evaginan del intestino anterior.

Una capa delgada de tejido conjuntivo laxo forma una cápsula alrededor de la glándula. Desde esta cápsula, el tabique se extiende hacia la glándula, dividiéndola en lobulillos y, dentro de estos, un estroma de tejido conjuntivo laxo rodea las unidades parenquimáticas. Entre los lobulillos, cantidades abundantes de tejido conjuntivo rodean los grandes conductos, vasos sanguíneos y nervios. Además, en

el tejido conjuntivo que rodea el conducto pancreático, existen glándulas mucosas pequeñas que drenan en el conducto (Figura 2) (Ross *et al.*, 2013).



**Figura 2.** Páncreas, duodeno y los conductos excretores asociados (Ross *et al.*, 2013).

### 1.2.1 Páncreas exócrino

El páncreas exócrino está formado por células acinares organizadas en acinos en los extremos terminales de una red altamente ramificada de células ductales. Las células acinares secretan lipasas, proteinasas y amilasas en el intestino delgado tras su activación proteolítica después de su secreción al duodeno (Larsen *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2018), catalizando la descomposición de lípidos, proteínas y carbohidratos, respectivamente. Las enzimas secretadas por las células acinares se transportan a través de la red de células ductales productoras de bicarbonato de hidrógeno que convergen en conductos secuencialmente más grandes, que eventualmente median la secreción del líquido pancreático rico en enzimas a través del conducto de Wirsung y el conducto accesorio de Santorini. Las células acinares constituyen la mayor parte del páncreas, un 90-98% del órgano (Barret *et al.*, 2013).

### 1.2.2 Páncreas endócrino

Intercalado entre el tejido acinar, la parte endócrina del páncreas consta de agregados ovoides de células llamadas “islotos pancreáticos” o “islotos de Langerhans”, altamente vascularizados e inervados, que comprenden aproximadamente 1 a 2% del páncreas, sin embargo hay más de mil millones de células en los seres humanos (Fox *et al.*, 2017) y son más comunes de encontrar en el cuerpo y la cola del páncreas. El páncreas humano contiene 1-2 millones de islotos que miden aproximadamente 76 x 175  $\mu\text{m}$  y están compuestos por cinco subtipos celulares endocrinos diferentes y cada uno sintetiza y secreta una hormona

principal: insulina (células  $\beta$ ), glucagón (células  $\alpha$ ), somastatina (células  $\delta$ ), polipéptido pancreático (células PP o  $\gamma$ ) y grelina (células  $\epsilon$ ) (Zhou *et al.*, 2018). Estas hormonas están basadas en péptidos y regulan el metabolismo de los nutrientes a través de procesos sistémicos como la homeostasis de la glucosa en sangre, la coordinación de la digestión y el apetito (Barret *et al.*, 2013).

En los últimos años, varios estudios han demostrado que la distribución celular, así como la abundancia relativa de los diferentes tipos de células en los islotes de Langerhans, es diferente en roedores (ratas y ratones), en humanos y primates no humanos (babuinos y monos). En un páncreas de humano adulto menos del 10% de las células endocrinas se encuentran dispersas por todo el parénquima exocrino, debido a que la mayoría de ellas están agregadas en los islotes de Langerhans. Los islotes localizados en la parte posterior de la cabeza pancreática muestran una forma irregular y están compuestos principalmente por células PP. Los islotes encontrados en la parte anterior de la cabeza pancreática, en el cuerpo y en la cola son de forma redonda a ovoide y están compuestos por los 5 tipos de células neuroendocrinas, incluidas las células  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  y PP que muestran una distribución específica dentro de cada islote (Folli *et al.*, 2018).

#### 1.2.2.1 Células $\beta$

Las células  $\beta$  son células secretoras especializadas, de larga vida, encargadas de la producción de toda la insulina circulante (Szabat *et al.*, 2016) y que, además, secretan amilina y péptido C. Están organizadas en estructuras polarizadas en forma de roseta alrededor de los vasos sanguíneos y están acopladas por uniones gap para permitirles detectar la glucosa y secretar cantidades apropiadas de insulina.

Las células  $\beta$  pancreáticas son las más numerosas y constituyen alrededor del 55% de las células de los islotes. Pueden identificarse fácilmente por su reactividad inmunohistoquímica para contra la insulina, proinsulina, péptido C y amilina. Ultraestructuralmente, las células  $\beta$  contienen gránulos secretores con un núcleo cristalino típico o un núcleo compacto finamente granular no cristalino. Los gránulos cristalinos y los compactos contienen insulina y proinsulina respectivamente (Cade *et al.*, 2017).

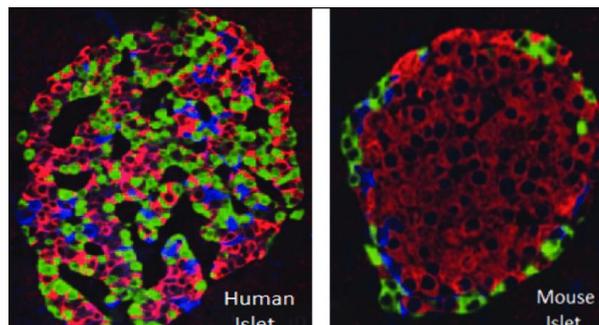
En los roedores, las células  $\beta$  están presentes en el núcleo del islote de Langerhans y representan casi el 90% de todas las células del islote (Orci *et al.*, 1982). Por el contrario, en los primates humanos y no humanos (mono y babuino) la citoarquitectura de los islotes de Langerhans es diferente de los islotes de roedores. En primates (humanos y no humanos), las células  $\beta$  se encuentran dispersas por

todo el islote, donde tienen interacciones homotípicas (entre los mismos tipos de células) y heterotípicas (Cabrera *et al.*, 2006) (Figura 3).

Las células  $\beta$  secretan insulina en respuesta a niveles altos de glucosa en sangre, como ocurre después de la ingestión de una comida y la absorción de nutrientes. Posteriormente, la insulina se libera en el torrente sanguíneo y se une a su receptor que se encuentra en la mayoría de los tejidos, aunque es particularmente alto en células del hígado, los músculos y el tejido adiposo para facilitar la absorción y el almacenamiento de glucosa (Jouvet *et al.*, 2017). La insulina es responsable de mantener la glucosa sérica entre 4 y 8 mmol/litro durante los períodos de alimentación y ayuno. Regula el metabolismo de lípidos y proteínas, así como el transporte de aminoácidos y electrolitos. Su efecto total es anabólico, al estimular el almacenamiento de carbohidratos, grasas y proteínas (Cade *et al.*, 2017).

La tasa de proliferación de las células  $\beta$  es bastante alta en roedores jóvenes, pero disminuye rápidamente con la edad (Zhou *et al.*, 2018), pues la maduración de las células  $\beta$  ocurre en las primeras dos semanas después del nacimiento (Bader *et al.*, 2016). Tanto su replicación estimulada por glucosa como la secreción de insulina dependen de una vía de señalización que involucra el metabolismo de la glucosa a través de la glucólisis y la fosforilación oxidativa.

El proceso de destete en roedores es importante para que estas células desarrollen un potencial de replicación compensatoria y específicamente de replicación estimulada por glucosa (Stolovich-Rain *et al.*, 2015). El destete es un proceso complejo que implica cambios drásticos en la dieta, las hormonas y las neuronas (Henning *et al.*, 1981), todos los cuales teóricamente podrían controlar la adquisición de la replicación de las células  $\beta$  inducida por la glucosa.



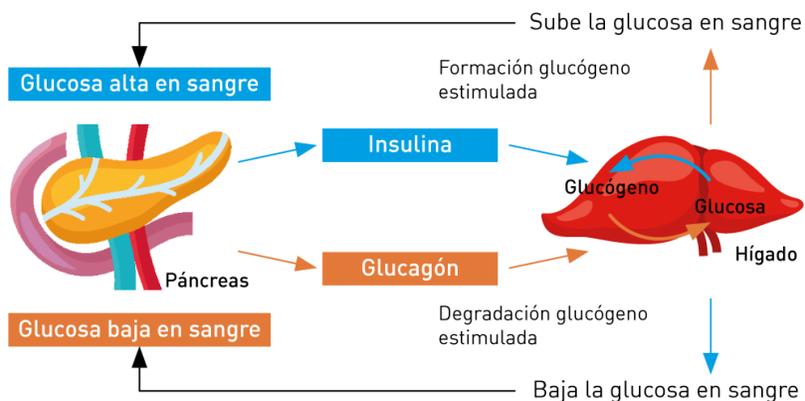
**Figura 3.** Tinción inmunohistoquímica en islotes de humano (izquierda) y ratón (derecha). La tinción de insulina está en rojo, el glucagón en verde y la somatostatina en azul. Las áreas negras dentro del islote humano están ocupadas por vasos sanguíneos. (Cabrera *et al.*, 2006).

### 1.2.2.2 Células $\alpha$

Las células pancreáticas  $\alpha$  secretan principalmente glucagón (Cade *et al.*, 2017) y constituyen del 15% al 20% de la masa total de los islotes en primates humanos y no humanos encontrándose dispersas por todo el islote (Folli *et al.*, 2018). En roedores, las células  $\alpha$  constituyen alrededor del 7% al 8% de todas las células pancreáticas y se ubican en la periferia del islote (Butler *et al.*, 2003).

Son positivas para cromograninas, por lo que se identifican específicamente con inmunohistoquímica utilizando anticuerpos contra glucagón C-terminal (McCarthy *et al.*, 2010). Ultraestructuralmente, las células  $\alpha$  poseen gránulos secretores de 200 a 300 nm con un núcleo redondo central muy denso en electrones, rodeado por un halo granular pálido. El núcleo denso en electrones contiene glucagón, mientras que las cromograninas se almacenan en el halo pálido.

El glucagón es una hormona peptídica que contrarresta el efecto de la insulina para movilizar las reservas de energía y aumentar la concentración de glucosa en sangre. Su secreción se produce principalmente en respuesta a los aminoácidos obtenidos de la dieta, aunque las principales acciones del glucagón implican el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos. El glucagón estimula la glucogenólisis, la gluconeogénesis y la cetogénesis. A concentraciones fisiológicas, el glucagón activa las vías de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) en los hepatocitos para activar o desactivar las enzimas quinasas o fosfatasas. Esto da como resultado un rápido aumento de la concentración de glucosa debido a la degradación del glucógeno, junto con una disminución de la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa. Se inhibe por el aumento de las concentraciones de glucosa en sangre, así como por las interacciones de la insulina y la somatostatina dentro del islote (Figura 4) (Cade *et al.*, 2017).



**Figura 4.** Papel regulador de la insulina y el glucagón sobre la glucemia. (Recuperado de: <https://www.douglaslabs.es/blog/los-carbohidratos-y-la-glucosa/>)

### 1.2.2.3 Células $\delta$ , $\epsilon$ y PP

Las células  $\delta$  constituyen 5% al 10% de las células de los islotes en primates humanos y no humanos, mientras que en roedores son la minoría y se localizan en la periferia de los islotes (Folli *et al.*, 2018). Producen somatostatina y pueden identificarse con inmunohistoquímica mediante anticuerpos antisomatostatina. Ultraestructuralmente, las células  $\delta$  muestran gránulos secretores densos en electrones, que están rodeados por una membrana de ajuste apretado. Las células  $\delta$  poseen tanto procesos cortos que contactan con células endocrinas como procesos largos que se extienden a capilares intrainsulares (Grube *et al.*, 1983). La distribución específica de las células  $\delta$  dentro de los islotes les permite modular la secreción de insulina y glucagón de las células  $\beta$  y  $\alpha$  de forma paracrina.

La somatostatina es una hormona inhibidora de la insulina, el glucagón y el polipéptido pancreático, entre otros. Bloquea la liberación de hormonas pancreáticas mediante la regulación paracrina, además, en órganos diana, como la pituitaria anterior, inhibe a la hormona del crecimiento, y en el tracto gastrointestinal inhibe la actividad hormonal gastrointestinal disminuyendo la motilidad intestinal (Cade *et al.*, 2017).

Las células  $\epsilon$  secretoras de grelina se encuentran en la periferia de los islotes y se tiñen mediante inmunohistoquímica con el marcador endocrino cromogranina. Estas células se denominaron inicialmente "células de grelina", pero posteriormente las denominaron "células  $\epsilon$ " (Prado *et al.*, 2004; Andralojc *et al.*, 2009). Las células  $\epsilon$  ahora se reconocen como el quinto tipo de célula endocrina de los islotes. La grelina es conocida como la "hormona del hambre" y actúa como un neuropéptido en el hipotálamo, aumentando el hambre, la secreción gástrica y la motilidad en preparación para que el tracto gastrointestinal reciba alimentos (Sakata *et al.*, 2019).

Finalmente, las células PP producen polipéptido pancreático que actúa localmente dentro del páncreas para autorregular la función endocrina y regular la secreción gastrointestinal (Kojima *et al.*, 2007). Representan aproximadamente el 70% de las células neuroendocrinas de los islotes irregulares y estructuralmente presentan gránulos secretores de tamaño, forma, densidad y estructura interna variables, mientras que en los islotes regulares se encuentran entre el 2% y 5% dispersas en la periferia y presentan pequeños gránulos secretores (Folli *et al.*, 2018).

La producción de polipéptidos pancreáticos se estimula en estados de ayuno e hipoglucemiantes, así como después de una comida proteica. Los niveles aumentan en condiciones de inanición como la anorexia nerviosa y disminuyen en los estados de saciedad o sobrealimentación (Cade *et al.*, 2017).

### 1.2.3 Organogénesis

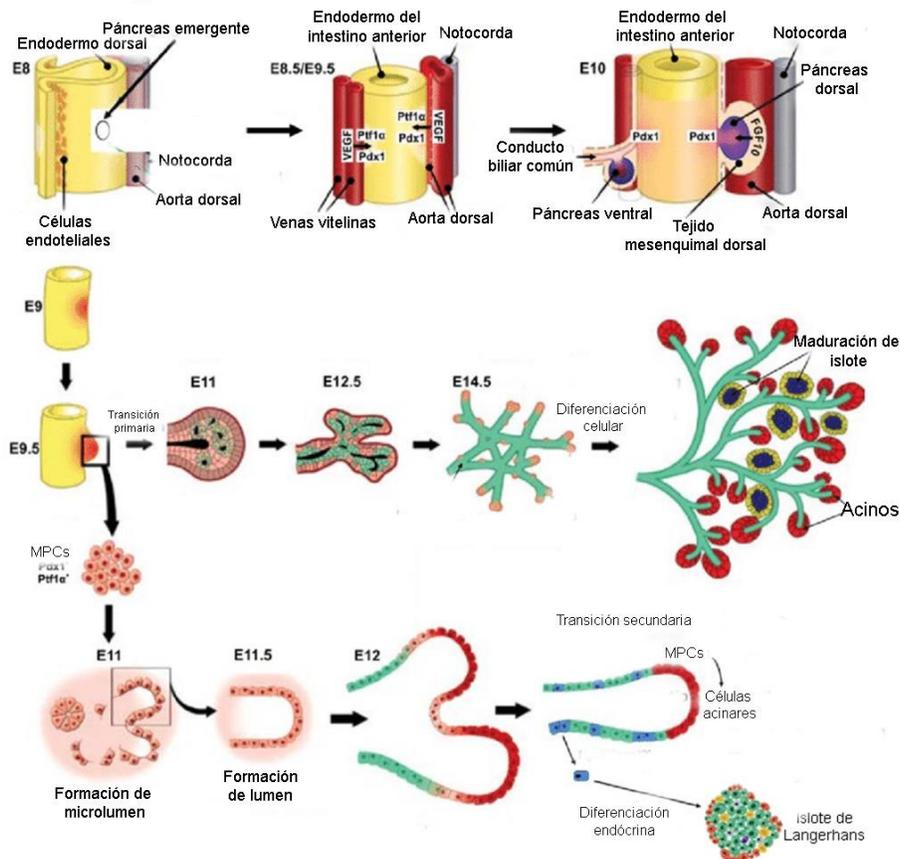
En ratones, el páncreas deriva del endodermo del intestino anterior y su desarrollo tiene lugar a través de una serie de procesos morfológicos para generar distintos tipos de células (Zorn *et al.*, 2009). La organogénesis temprana del páncreas se puede clasificar en dos etapas principales. En la etapa primaria (o transición), las señales de la notocorda, el endotelio y el mesénquima inducen los brotes pancreáticos a través de la formación y expansión de células progenitoras multipotentes (MPC) (Grapin-Botton *et al.*, 2017). Las MPC proliferan a gran escala para generar un epitelio multicapa en el que se desarrollan estructuras de microlumen. Durante la etapa secundaria, la fusión de la microlumina crea un plexo central que se remodela aún más en una red epitelial ramificada continua, segregada en dominios de punta y tronco (Bankaitis *et al.*, 2015). Estos eventos morfológicos coinciden con la formación de tres células pancreáticas principales (células endocrinas, exocrinas/acinares y ductales), destacando una estrecha asociación entre la morfogénesis y la diferenciación durante el desarrollo del páncreas. Otras interacciones e interconexiones entre las células pancreáticas y el mesénquima circundante, el endotelio y las proyecciones neuronales (Thorens *et al.*, 2014) construyen la anatomía final del páncreas adulto.

El primer paso en la formación del páncreas implica la especificación de las yemas pancreáticas dorsal y ventral del endodermo del intestino anterior. Estas yemas están formadas por MPC proto-diferenciadas que expresan el gen homeobox 1 pancreático y duodenal (Pdx1) y el factor de transcripción específico del páncreas 1a (Ptf1a) (Burlison *et al.*, 2008). Una vez que se han formado las yemas pancreáticas, su morfogénesis genera una red epitelial tubular muy ramificada en forma de árbol. Este proceso altamente coordinado implica la estratificación epitelial, la polarización celular, la formación y fusión de microlúmenes, dando lugar finalmente a un plexo luminal. Posteriormente, el plexo se remodela en una compleja red tubular (Bastidas-Ponce *et al.*, 2017).

La función adecuada del páncreas también depende de la vascularización y la innervación del órgano. Mientras que las señales derivadas del endotelio promueven la expansión de las yemas pancreáticas tempranas, un aumento en la densidad de los vasos sanguíneos inhibe la ramificación epitelial, la especificación acinar y la posterior expansión acinar (Magenheim *et al.*, 2011). Por el contrario, los plexos vasculares de los islotes son necesarios para la innervación de los islotes, que es esencial para la regulación adecuada de la homeostasis de la glucosa en sangre (Larsen *et al.*, 2017).

### 1.2.3.1 Formación de los islotes de Langerhans

A partir de la transición secundaria, las células endocrinas diferenciadas abandonan el epitelio ductal, migran al mesénquima circundante y se fusionan para formar protoislotes. Las interconexiones de estas estructuras con células endoteliales, mesenquimales y neuronales promueven la formación de islotes funcionales (Figura 5). Este proceso general está regulado por las actividades espacio-temporales de varios factores de señalización diferentes y la coordinación de la dinámica celular (Bastidas-Ponce *et al.*, 2017).



**Figura 5.** Desarrollo y organogénesis del páncreas. El desarrollo pancreático inicia entre los días embrionarios E8.5-E9.5, como dos yemas separadas del endodermo del intestino medio, que, luego se ramifican y proliferan para formar acinos y conductos, fusionándose eventualmente en un órgano por E16-E17 de manera similar al desarrollo pancreático humano. Las células endocrinas se desarrollan a partir del epitelio ductal y pueden detectarse tan pronto como el desarrollo de la yema, inicialmente como pequeños clusters de células de los islotes o hebras. Para E18.5, los islotes, acinos y células epiteliales ductales se han desarrollado y, posteriormente, en E19, hay una fase de replicación rápida crucial de las células  $\beta$  con una maduración de los precursores de las células  $\beta$ , que eventualmente forman islotes maduros funcionales. (Mühlemann, 2018).

### 1.2.3.2 Maduración de las células endocrinas.

Se ha demostrado que los factores de transcripción básicos con cremalleras de leucinas MafA/B (bZIP MafA/B) desempeñan un papel fundamental en la maduración funcional de las células  $\alpha$  y  $\beta$ . MafB se expresa en dichas células embrionarias nacientes, y se mantiene en células  $\alpha$  maduras donde regula la expresión de glucagón (Artner *et al.*, 2006). La maduración de las células  $\beta$  está orquestada por un cambio temporal en la expresión del factor Maf. Las células  $\beta$  nacientes MafB<sup>+</sup> MafA<sup>-</sup> Ins<sup>+</sup> inmaduras inician con la expresión de MafB, que a su vez induce la expresión de genes específicos de células  $\beta$  necesarios para la detección de glucosa, el acoplamiento de vesículas y la secreción de insulina, que luego son mantenidos por MafA que, en un estado maduro, regula la expresión de genes esenciales de las células  $\beta$ , como la insulina, el Pdx1 y el transportador de glucosa 2 (GLUT-2) (Artner *et al.*, 2010), aunque este cambio es no conservado en humanos (Riedel *et al.*, 2012).

Si bien se han descrito algunas características únicas en la maquinaria de replicación de las células  $\beta$  jóvenes (Gunasekaran *et al.*, 2012), no se sabe si las células  $\beta$  nacen con una capacidad completamente desarrollada para la replicación compensatoria, es decir, su capacidad de replicarse para cumplir con sus responsabilidades fisiológicas (Bonner-Weir *et al.*, 1989), o si esta es una característica que debe ser adquirida. La última idea es consistente con los hallazgos de que la función de las células  $\beta$ , es decir, la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS), se desarrolla gradualmente durante la vida posnatal. En ratones, la maduración de las células  $\beta$  ocurre alrededor de la segunda semana después del nacimiento. La función secretora de las células  $\beta$  continúa mejorando mucho más allá de las primeras 3 semanas de vida (Bliss y Sharp, 1992).

La edad en la que las células  $\beta$  demostraron por primera vez una proliferación compensatoria (la cuarta semana de vida) coincide con el momento del destete, que en los ratones ocurre gradualmente entre los días 16 y 28 posnatales (Henning, 1981). La transición de la dieta de un alto contenido de grasas a carbohidratos, en lugar de otros aspectos del destete, es un factor clave para desarrollar el potencial de la replicación de células  $\beta$  estimulada por glucosa (Stolovich-Rain, 2015).

### 1.3 Metabolismo

Las funciones conjuntas de las partes exócrina y endócrina son esenciales en el metabolismo, ya que facilitan la digestión de los nutrientes y la regulación posterior de la homeostasis de la glucosa en sangre, respectivamente (Barret *et al.*, 2013).

El metabolismo de los nutrientes en las células pancreáticas no solo sirve para proporcionar energía a la célula, sino que también es mecanismo para detectar y reaccionar a los niveles de macronutrientes, lo que hace que el metabolismo pancreático sea fundamental para la regulación de la homeostasis energética de todo el cuerpo. Se requiere un metabolismo energético eficiente en las células del islote para permitir la secreción de las hormonas, principalmente insulina y glucagón, que regulan a la glucosa y a los lípidos en todo el cuerpo.

Las células  $\beta$  responden a macronutrientes como otros monosacáridos, aminoácidos, ácidos grasos libres (FFA), así como hormonas y neurotransmisores. Además de las respuestas de los nutrientes, las hormonas circulantes también regulan el metabolismo de las células  $\beta$ , como lo son las hormonas incretinas péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) y polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP). Ambas hormonas se liberan del intestino en respuesta a la ingesta de alimentos y activan sus correspondientes receptores acoplados a proteína G (GLP-1R o GIPR) en las células  $\beta$  (Jouvet *et al.*, 2017).

### 1.3.1 Liberación de insulina

La insulina es una hormona polipeptídica que consta de 51 aminoácidos, está codificada por un solo gen (INS) en el brazo corto del cromosoma 11 (Wilcox, 2005) y se sintetiza como una proteína preprohormona llamada preproinsulina en el retículo endoplásmico rugoso de las células  $\beta$ . Después se llevan a cabo procesos sucesivos de escisión para producir primero proinsulina, antes de ser transportada al aparato de Golgi donde de nuevo es escindida por proteasas para formar insulina y péptido C, que, junto a algo de proinsulina restante, se empaqueta en gránulos secretores listos para su liberación a la sangre. La insulina tiene una vida media de 4 minutos y se metaboliza rápidamente en el hígado y los riñones. Por el contrario, el péptido C tiene una vida media de 30 minutos y se excreta sin cambios por los riñones, lo que lo convierte en un biomarcador útil de la secreción de insulina endógena (Cade *et al.*, 2017).

La liberación de la insulina de las células  $\beta$  se puede dar por dos mecanismos: secreción estimulada y no estimulada. La secreción basal o no estimulada ocurre cada 6 a 8 minutos. La liberación estimulada ocurre en respuesta a varios estímulos, siendo el estímulo principal la glucosa extracelular. Otros estímulos son la galactosa, manosa, acetilcolina y algunos aminoácidos como arginina y leucina (Cade *et al.*, 2017).

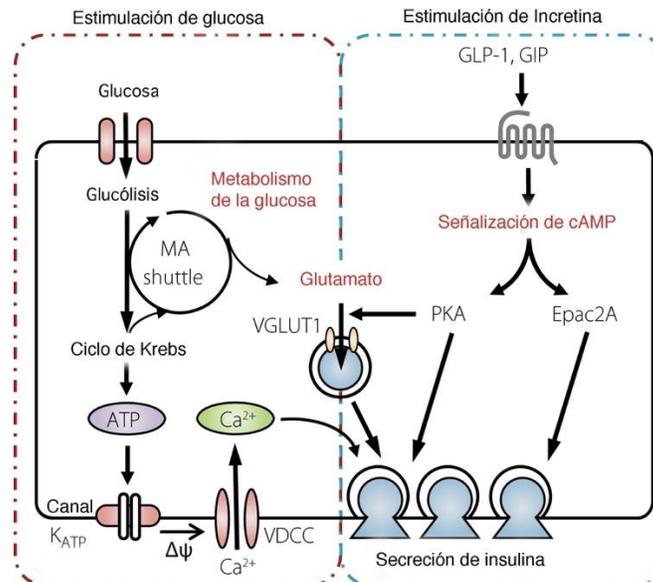
### 1.3.1.1 Secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS)

La glucosa sérica es transportada rápidamente a través de la membrana de las células  $\beta$  debido a la expresión del transportador de alta capacidad y baja afinidad GLUT-2 (Tomita, 2016), aunque también se ha reconocido la expresión de GLUT-1 y GLUT-3. Una vez intracelular, la glucosa es fosforilada por la enzima glucoquinasa a glucosa-6-fosfato, que a su vez se somete a glucólisis para producir ATP. La célula  $\beta$  es rica en canales de potasio dependientes de ATP, que se cierran en respuesta a un aumento de este, lo que provoca la despolarización de la membrana, que a su vez, activa los canales de calcio dependientes de voltaje que conducen a un influjo de calcio en la célula. Esto provoca la marginación de los gránulos secretores y la exocitosis de insulina y péptido C al torrente sanguíneo (Figura 6). Este proceso caracteriza la "primera fase" de la liberación de insulina, donde la insulina se detecta en la circulación dentro de los 3-5 minutos de la entrada de glucosa en sangre.

La segunda fase, de mayor duración, alcanza una meseta a las 2-3 horas. Esta fase es caracterizada por la movilización dosis-dependiente de los gránulos intracelulares, y persiste mientras el nivel de glucosa en plasma se mantenga elevado (Cade *et al.*, 2017).

Los aminoácidos arginina y leucina también estimulan la liberación de insulina. En este caso, la captación es a través de un transportador de aminoácidos catiónicos, lo que conduce a la despolarización de la membrana y la entrada de calcio. Otros moduladores de la secreción estimulan diferentes vías de señalización intracelular, por ejemplo, el glucagón estimula la liberación de insulina, actuando a través de la adenilil ciclasa, elevando los niveles de cAMP, estimulando la proteína quinasa A y provocando la desgranulación y la liberación de insulina. Por el contrario, la somatostatina inhibe la liberación de insulina ya a la adenilil ciclasa (Jiang *et al.*, 2003).

El efecto incretina modula aún más la liberación de insulina de las células  $\beta$ . Un enfoque basado en metabolómica, mostró que el glutamato actúa como una señal celular clave que vincula el metabolismo de la glucosa con la acción de las incretinas /AMPc para amplificar la secreción de insulina (Yokoi *et al.*, 2016). Los factores entéricos conocidos como incretinas son péptidos liberados por la mucosa intestinal en respuesta a la presencia de nutrientes en la luz intestinal y son potentes secretagogos de insulina. El péptido inhibidor gástrico y el péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) son liberados por las células K y L duodenales y yeyunales respectivamente, mejorando la secreción de insulina mediante la activación de la adenilil ciclasa y el cAMP (Figura 6).



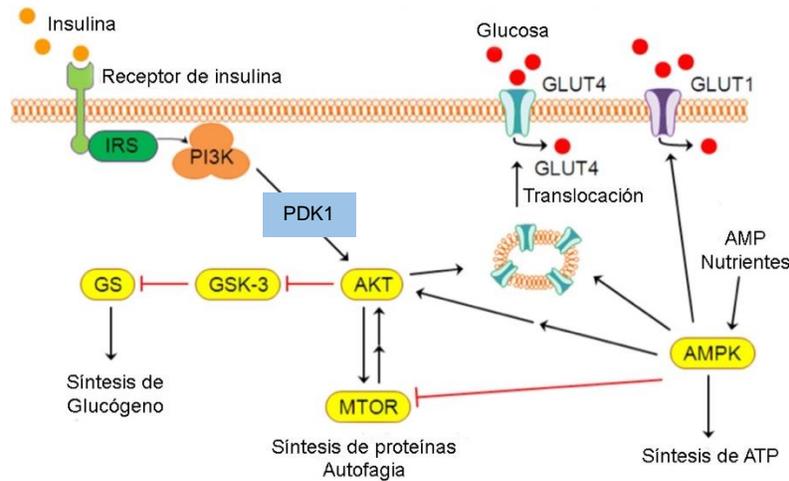
**Figura 6.** Metabolismo de la glucosa y la señalización de incretina/AMPC para amplificar la secreción de insulina. El glutamato producido a través de la lanzadera malato-aspartato (MA) vincula el metabolismo de la glucosa y la señalización del monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) para amplificar la secreción de insulina (Yokoi *et al.*, 2016).

### 1.3.2 Señalización de la insulina

Las diversas acciones celulares de la insulina se inician por su unión a un receptor específico de insulina (INSR), que pertenece a una subfamilia de receptores tirosina quinasas (Ogawa *et al.*, 1998). La molécula de insulina se une a la subunidad  $\alpha$  del receptor, que sufre un cambio conformacional, provocando que se autofosforilen varios residuos de tirosina de la subunidad  $\beta$ , lo que lleva al reclutamiento y la fosforilación adicional de varias proteínas efectoras (Rains *et al.*, 2011).

Los sustratos del receptor de insulina (IRS) que se unen al INSR, son fosforilados en tirosina y actúan como un sitio de unión para las moléculas de señalización que contienen dominios de homología Src 2 y de unión a fosfotirosina aumentando la señalización (Sun *et al.*, 1995). Estas moléculas se unen a los residuos de tirosina fosforilados de las proteínas IRS, formando un complejo de señalización para mediar la señalización downstream. PI3K es el principal mediador de señales de las acciones metabólicas y mitogénicas de la insulina. Está compuesto por una subunidad reguladora p85, que se une a las proteínas IRS, y una subunidad catalítica p110. Después de la asociación de p85 con IRS-1/2, la subunidad p110 ha aumentado la actividad catalítica. Esto permite la fosforilación de su sustrato, PtdIns P2, para generar PtdIns P3. El segundo mensajero, PtdIns P3, recluta las serina quinasas PDK-1, PKB/Akt y PKC en la membrana plasmática a través de sus dominios, llamados dominios de homología phox (PH) (Saltiel *et al.*, 2001; Rains *et al.*, 2011). La señalización de AKT a través de numerosos objetivos gobierna los

efectos metabólicos de la insulina. Por ejemplo, regula la translocación del transportador de glucosa 4 (GLUT-4) a la membrana plasmática. También, la fosforilación de la fosfofructoquinasa 2 por AKT induce la glucólisis. Finalmente, AKT fosforila e inhibe la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3), un regulador negativo de la síntesis de glucógeno y la lipogénesis (Figura 7) (Poloz *et al.*, 2015).



**Figura 7.** Esquema de la vía de señalización de la insulina (Elmadhum *et al.*, 2012).

#### 1.4 Alteraciones del páncreas

La naturaleza sistémica de los procesos regulados por el páncreas se refleja en la considerable morbilidad y mortalidad asociadas con enfermedades pancreáticas como diabetes mellitus, pancreatitis y cáncer de páncreas (Larsen *et al.*, 2017). La mayoría de los carcinomas son ductales, se originan en el páncreas exocrino, mientras que la diabetes y los tumores neuroendocrinos pancreáticos surgen de los islotes endocrinos (Zhou *et al.*, 2018).

La alteración del equilibrio metabólico pancreático, actualmente, se debe principalmente al estilo de vida sedentario y las dietas altas en calorías, que son los principales contribuyentes a la obesidad y la resistencia a la insulina, íntimamente ligadas al síndrome metabólico.

##### 1.4.1 Diabetes mellitus tipo 2

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que en el año 2016, estimó la presencia de obesidad en alrededor de 650 millones de adultos, prevalencia que se ha triplicado entre 1975 y 2016. La obesidad va acompañada de un aumento del desarrollo de enfermedades como la diabetes tipo 2. En 2015, la Federación Internacional de Diabetes estimó que 415 millones de personas padecían diabetes

en el mundo, de las cuales, el 90% era diabetes tipo 2 (World Health Organization, 2018).

La diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) es el resultado de la incapacidad de las células  $\beta$  para secretar cantidades suficientes de insulina para mantener la homeostasis de la glucosa frente a la resistencia a la insulina (Kahn, 2003). La causa subyacente de la insuficiencia de las células  $\beta$  probablemente sea una combinación de factores genéticos, epigenéticos y ambientales, pero se desconoce su naturaleza precisa. Varios estudios han indicado que la pérdida de la identidad y la maduración de las células  $\beta$  es la base de la patogenia de la diabetes tipo 2 (Moullé *et al.*, 2017).

Al inicio de la enfermedad no hay cambios macroscópicos específicos del páncreas, sin embargo, después de un período prolongado hay una disminución del 1% al 40% del peso pancreático total. Histológicamente, al inicio, la masa de células de los islotes es más o menos normal, mientras que en pacientes con diabetes tipo 2 de larga evolución se pueden observar varias alteraciones morfológicas como la distribución anormal de las células  $\beta$  y la reducción o aumento del número de células de los islotes, en particular, el volumen de las células  $\beta$  se reduce mientras que las células  $\alpha$  aumentan. Estas alteraciones parecen estar relacionadas con mecanismos proliferativos y apoptóticos (Guardado-Mendoza *et al.*, 2009; Folli *et al.*, 2018).

#### 1.4.1.1 Proliferación de las células $\beta$

En respuesta a un estado prediabético, en el que los nutrientes circulantes se encuentran a niveles crónicamente más altos de lo normal, las células  $\beta$  proliferan y aumentan de masa para satisfacer la mayor demanda de insulina, pero la tasa lenta de proliferación y regeneración celular en este no siempre es suficiente para mantener la homeostasis de la glucosa. La glucemia se vuelve aún más difícil de controlar debido a la ineficacia de la insulina para inhibir la secreción de glucagón (probablemente debido a la resistencia a la insulina en las células de los islotes), lo que ejerce una presión adicional sobre las células  $\beta$  con exceso de trabajo (Jouvet *et al.*, 2017). El estrés causado por el aumento del metabolismo mitocondrial conduce a la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), dañando el ADN y las proteínas. Además, las altas concentraciones de glucosa y lípidos circulantes tienen sus propios efectos perjudiciales sobre las células  $\beta$  (glucolipototoxicidad) y la inflamación en los tejidos periféricos y el páncreas, una característica común asociada con la obesidad que tiene efectos negativos sobre la función de las células  $\beta$  (Newsholme *et al.*, 2016).

La proliferación de células  $\beta$  puede ser modulada por diversas señales que incluyen hormonas (por ejemplo, insulina), factores de crecimiento (factor de crecimiento similar al factor de crecimiento epitelial (EGF) que se une a la heparina), neurotransmisores (serotonina, GABA) y nutrientes (glucosa y ácidos grasos) (Jouvet *et al.*, 2017). Akt induce la proliferación de células  $\beta$  mediante la regulación de los niveles de ciclina D1, ciclina D2 y p21 y la actividad quinasa-4 dependiente de ciclina (Fatrai *et al.*, 2006).

Cuando están estresadas, las células  $\beta$  pueden salir de su estado diferenciado maduro a estados de disfunción y dediferenciación, incluidas las condiciones en las que las células  $\beta$  tienen poca o ninguna proteína de insulina (Szabat *et al.*, 2012; Weir *et al.*, 2013). La dediferenciación se ha propuesto como un mecanismo importante de disfunción de las células  $\beta$  en la diabetes (Wang *et al.*, 2014) pero sigue siendo poco conocido.

#### 1.4.1.2 Apoptosis de las células $\beta$

Se cree que la diabetes tipo 2 (T2DM) se modula a través de la apoptosis de células  $\beta$ . La apoptosis se caracteriza por la contracción celular, la condensación de la cromatina, la fragmentación del ADN internucleosómico y el desmontaje celular en vesículas rodeadas de membrana (cuerpos apoptóticos) (Tomita, 2016). Esta muerte celular programada está implicada en la remodelación del páncreas endocrino normal después del nacimiento, y juega un papel importante en el desarrollo de la masa final de células  $\beta$  (Finewood *et al.*, 1995). El papel de la apoptosis en la fisiología del desarrollo pancreático normal se ha demostrado en el páncreas neonatal. La apoptosis de células  $\beta$  también es una característica patológica que es común tanto a la diabetes mellitus tipo 1 (T1DM) como en la T2DM.

Existen dos vías de la apoptosis, las vías extrínseca e intrínseca (impulsada por la salida de la caspasa-9 de las mitocondrias). La vía extrínseca es mediada por receptores y se activa tras la unión de ligandos a los receptores de muerte de la superficie celular. Estos, a su vez activan el mecanismo efector descendente orquestado por la familia de las caspasas que son cisteína proteasas (Emamullee *et al.*, 2006). La caspasa-3 es un punto convergente de ambas vías apoptóticas. Las caspasas son proteasas que cortan al sustrato después de un residuo de ácido aspártico y que existen como zimógenos en el citoplasma, el retículo endoplásmico (RE), el espacio intermembranal mitocondrial y la matriz nuclear. La apoptosis inducida por la unión de ligandos a receptores de superficie celular como Fas (CD95) o receptores del factor de necrosis tumoral (TNF), los "receptores de muerte", representa una vía controlada por caspasas (Chandra *et al.*, 2001). La

unión del ligando al receptor provoca el ensamblaje de una serie de proteínas del complejo de señalización inductor de muerte, que luego activa la procaspasa-8. La caspasa-8 activa induce la activación de la procaspasa-3 a caspasa-3 (Tomita, 2016).

La vía mitocondrial de la apoptosis se centra y está definida por un evento fundamental en el proceso de muerte celular: la permeabilización de la membrana externa mitocondrial (MOMP). Las proteínas secuestradas en el espacio intermembrana mitocondrial, entre las membranas mitocondriales interna y externa, obtienen acceso a otras proteínas en el citosol y esto resulta en apoptosis. Al describir este camino en forma simplificada, tenemos una situación upstairs/downstairs, en la que “upstairs” son las proteínas de la familia Bcl-2 que regulan y median MOMP y “downstairs” es la activación de caspasas que orquestan el desmantelamiento de la célula (Danial & Korsmeyer, 2004; Spierings *et al.*, 2005).

#### 1.4.2 Otras afecciones

La diabetes tipo 1 (T1DM), que representa alrededor del 5-10% de todos los casos de diabetes, es una enfermedad autoinmune crónica en la que las células  $\beta$  se destruyen de forma selectiva, lo que lleva a una deficiencia grave de insulina que debe tratarse con inyecciones diarias de insulina para sobrevivir. A menudo se manifiesta en niños y adolescentes, pero muchos pacientes son diagnosticados como adultos (Zhou *et al.*, 2018). Las características patológicas prominentes del páncreas de la T1DM son la pérdida de células  $\beta$  y la inflamación de los islotes. Las células T autorreactivas se consideran los principales mediadores de la pérdida de células  $\beta$  (Rodríguez-Calvo *et al.*, 2018). Juntas, T1DM y T2DM representan una población de pacientes grande y creciente con deficiencia de células  $\beta$  pancreáticas.

Además de los problemas con la función de las células de los islotes, existe la enfermedad del páncreas graso no alcohólico (NAFPD), en el que la acumulación de grasa en el páncreas en su conjunto también interrumpe la secreción de insulina y puede contribuir o incluso iniciar enfermedades metabólicas. Además, diversas investigaciones han identificado que la alteración del metabolismo pancreático a menudo es consecuencia de patología en otros órganos, como inflamación en el hígado o tejido adiposo o alteraciones en el microbioma intestinal (Jouvet *et al.*, 2017).

Los estudios en animales han sugerido que el páncreas exocrino posee una capacidad intrínseca de regeneración y, por lo tanto, puede recuperarse rápida y completamente de enfermedades exocrinas como la pancreatitis aguda. Por el contrario, los islotes pancreáticos tienen una capacidad regenerativa limitada en

adultos. Aún no está claro si el páncreas humano adulto puede regenerar espontáneamente las células  $\beta$  de alguna manera fisiológicamente significativa, o si la pérdida sustancial de estas da como resultado una deficiencia endocrina permanente y una diabetes irreversible. Existe un consenso cada vez mayor de que un enfoque de medicina regenerativa será útil, incluso esencial, en el tratamiento de ciertas formas de diabetes, incluida la diabetes tipo 1 y posiblemente el subconjunto de diabetes tipo 2 en el que hay una pérdida sustancial de células  $\beta$  (Zhou *et al.*, 2018).

Estudiar la capacidad regenerativa intrínseca de los islotes pancreáticos y diseñar nuevas estrategias para fomentar la producción células  $\beta$  secretoras de insulina tendría importantes implicaciones para el desarrollo de tratamientos terapéuticos para la diabetes y otras enfermedades del páncreas. Aumentar el conocimiento de los mecanismos celulares durante la organogénesis del páncreas embrionario y perinatal podría resultar esencial en la identificación de parámetros de control para la diferenciación celular *in vitro* o el restablecimiento de la diferenciación y el control proliferativo.

## **Capítulo 2. Disruptores endócrinos**

### 2.1 Generalidades

Además de la predisposición genética, el envejecimiento, la alimentación, el estilo de vida y la actividad física, los factores ambientales, como lo son los agentes xenobióticos, juegan un papel importante en la determinación del riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas.

Un agente xenobiótico es cualquier sustancia extraña al organismo (exógena) que puede manifestar efectos benéficos o dañinos en este después de atravesar y alcanzar los receptores específicos del órgano o tejido, por lo cual debe ser capaz de atravesar las diferentes barreras biológicas (Vega *et al.*, 2000). Durante las últimas dos décadas, numerosos estudios han informado que la mayoría de los xenoestrógenos son sustancias químicas disruptoras endocrinas (Yuan *et al.*, 2014; Pojana *et al.*, 2007).

Los DE se definen como una sustancia o mezcla exógena que altera la función o funciones del sistema endocrino y, en consecuencia, causa efectos adversos para la salud en un organismo, o su progenie o en (sub) poblaciones (Park *et al.*, 2020). Incluyen una amplia variedad de sustancias, tales como hormonas naturales y sintéticas, pesticidas, subproductos industriales, productos de consumo, contaminantes y componentes de plásticos (Alonso-Magdalena *et al.*, 2011).

Estos DE, son estrógenos ambientales (xenoestrógenos) que imitan a las hormonas (como el  $17\beta$ -estradiol) para interactuar con los receptores de estrógenos (RE) de animales o seres humanos (González *et al.*, 2019). Algunos estrógenos ambientales, como el bisfenol A y sus derivados, se pueden encontrar en diversos productos de uso común, lo que resulta en la exposición humana a estas sustancias (Hu *et al.*, 2020).

Durante los últimos años, ha surgido evidencia epidemiológica que vincula un número creciente de disruptores endócrinos con el desarrollo de una diversidad de trastornos (Mimoto *et al.*, 2017) como obesidad, diabetes, enfermedades cardiovasculares, cáncer y neurotoxicidad.

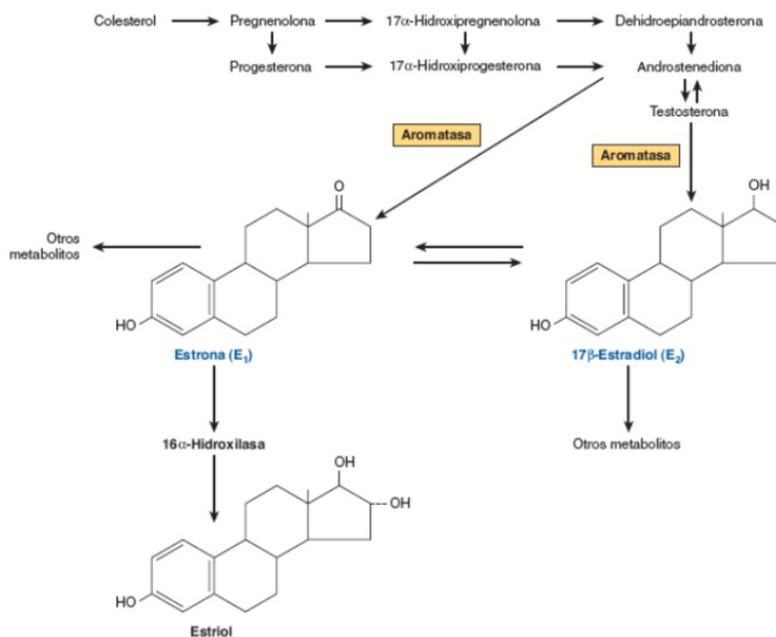
## 2.2 Hormonas y receptores esteroideos

### 2.2.1 Estrógenos

Las hormonas esteroideas son moléculas lipofílicas que se derivan del colesterol y se pueden agrupar en corticoesteroides (producidos en la corteza suprarrenal) y esteroides sexuales (producidos en las gónadas) (Corsini *et al.*, 2018), los cuales se secretan en su forma activa final a medida que se sintetizan (Murray *et al.*, 2010) y se unen a receptores intracelulares para regular diversas funciones biológicas como lo son la proliferación y supervivencia celular, organogénesis, metabolismo y homeostasis (Brosens *et al.*, 2004).

Los esteroides sexuales se distinguen como andrógenos, progestágenos y estrógenos, de acuerdo a los receptores a los que se unen (Corsini *et al.*, 2018). Los estrógenos naturales son  $17\beta$ -estradiol (E2), estrona (E1) y estriol (E3) (Gruber *et al.*, 2002), los cuales se encuentran principalmente en mujeres y tienen funciones en el desarrollo y diferenciación de los tejidos reproductivos y caracteres sexuales secundarios, regulación del ciclo menstrual, entre otros (Henley *et al.*, 2005).

Los estrógenos se forman por medio de la aromatización periférica de andrógenos por medio del complejo enzimático aromatasa monoxigenasa P450 presente en el retículo endoplásmico liso (Gruber *et al.*, 2002) de las células adiposas, hepáticas, de la piel y otros tejidos, el cual comprende 3 pasos de hidroxilación dependientes de oxígeno y NADPH (Figura 8) (Murray *et al.*, 2010).



**Figura 8.** Biosíntesis de estrógenos (Murray *et al.*, 2010).

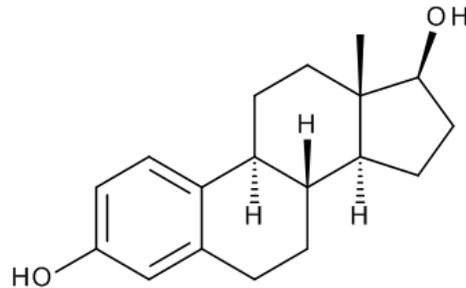
### 2.2.2 17β-estradiol

El 17β-estradiol (E<sub>2</sub>) es el estrógeno primario de 18 carbonos con un anillo fenólico A y un grupo hidroxilo en el carbono 17 en la conformación β (Figura 9) (Sato *et al.*, 2016), el cual es mayormente producido en los ovarios pero también en los testículos a bajas concentraciones. Estimula la proliferación del endometrio uterino e induce el aumento de la hormona luteinizante (LH), secretada por la hipófisis, para la ovulación (Murray *et al.*, 2010).

El E<sub>2</sub> se produce a partir de testosterona o de estrona (E<sub>1</sub>) por la aromatasa P450 y por la 17β-hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β-HSD) en las células de la granulosa y las células lúteas del ovario, respectivamente, las células de Leydig de los testículos, la glándula suprarrenal, la placenta (humana), el cerebro (ratón) y el tejido adiposo (Payne *et al.*, 2004). Se utilizan dos moléculas de oxígeno para la oxidación del grupo metilo C19 y la tercera reacción oxidativa se considera un ataque peroxidativo sobre el grupo metilo C19 combinado con la eliminación de hidrógeno 1β, produciendo ácido fórmico y el anillo A fenólico (Paterni *et al.*, 2014).

En las mujeres con ciclos menstruales activos, los ovarios producen entre 70 y 500 µg de E<sub>2</sub> al día que se convierte en estrona (E<sub>1</sub>) y, en menor medida, en estriol (E<sub>3</sub>) (Cheskis *et al.*, 2007). Llega a su punto máximo alrededor del día 14 del ciclo menstrual y estimula la liberación acelerada de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que conduce al aumento de LH y a la ovulación. El E<sub>2</sub> estimula la diferenciación y proliferación del endometrio en la fase proliferativa y

mantiene el endometrio uterino proliferado y aumenta la hiperemia durante la fase secretora (Sato *et al.*, 2016).



**Figura 9.** Estructura del 17β-estradiol. (LGC Limited 2020. All rights reserved.)

### 2.2.3 Receptores ERα y ERβ

Las hormonas están presentes a concentraciones muy bajas en el líquido extracelular ( $10^{-15}$  a  $10^{-9}$  mol/L), en consecuencia, las células diana deben distinguir no solo entre diferentes hormonas presentes en pequeñas cantidades, sino también entre una hormona dada y el exceso de otras moléculas similares; este grado de discriminación es proporcionado por moléculas de alto reconocimiento llamadas receptores (Murray *et al.*, 2010).

Las funciones fisiológicas de los compuestos estrogénicos están moduladas en gran medida por los subtipos de receptores de estrógenos alfa (ERα) y beta (ERβ). Estas proteínas tienen acciones en el núcleo celular, regulando la transcripción de genes diana específicos al unirse a secuencias reguladoras de ADN, controlando funciones fisiológicas clave en varios sistemas del organismo, como los sistemas reproductivo, esquelético, cardiovascular y nervioso central, así como en tejidos específicos (como la mama y los sub-compartimentos de próstata y ovario) (Paterni *et al.*, 2014). En los seres humanos, el ERα está presente principalmente en la glándula mamaria, útero, ovario (células tecales), hueso, órganos reproductores masculinos, próstata (estroma), hígado y tejido adiposo. Por el contrario, ERβ se encuentra principalmente en la próstata (epitelio), vejiga, ovario (células de la granulosa), colon, tejido adiposo y sistema inmunológico, y generalmente contrarresta la hiperproliferación de células promovida por ERα en tejidos como la mama y el útero (Henley *et al.*, 2005; Sato *et al.*, 2016).

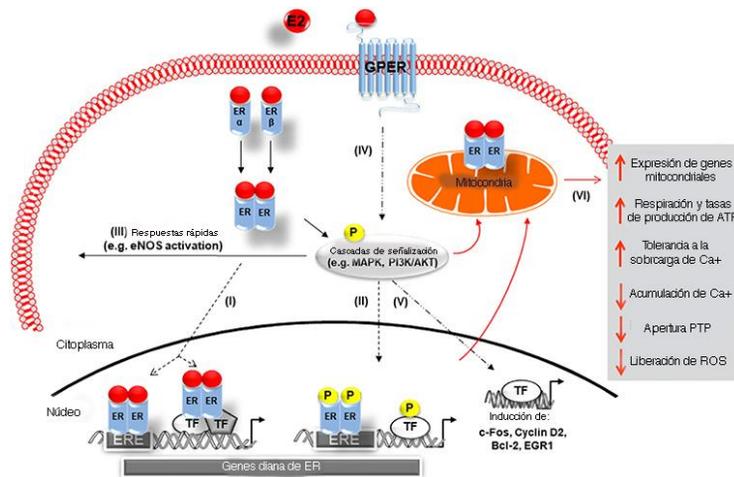
Los receptores se encuentran en el citoplasma o en el núcleo de las células unidos por proteínas chaperonas cuando E2 está ausente. Una vez que E2 se ha unido a los ER, el ER se homodimeriza y se une a secuencias de ADN específicas dentro de la región promotora de los genes diana para iniciar la transcripción. ERα también

forma un heterodímero con ER $\beta$ . El complejo ligando-ER recluta comoduladores transcripcionales que incluyen miembros de la familia del complejo receptor de esteroides (SRC)/p160 y el complejo de proteína asociada al receptor tiroideo (TRAP220) (Paterni *et al.*, 2014).

#### 2.2.4 Receptor acoplado a proteína G (GPER)

Los GPER se definen como receptores que envían señales a través de proteínas heterotriméricas de unión a nucleótidos de guanina para alterar la actividad de las proteínas efectoras (Prossnitz *et al.*, 2008). En los últimos años se ha descubierto que un miembro de la familia de receptores acoplados a proteína G 7-transmembrana, GPER, ha estado implicado en la mediación de eventos en respuesta al estrógeno en determinadas circunstancias. Su expresión en ciertos tejidos también muestra diferencias sexuales, como en el cerebro y los islotes pancreáticos, donde las hembras expresan niveles más altos que los machos. (Filardo y Thomas, 2005; Prossnitz *et al.*, 2009; Sharma *et al.*, 2018).

GPER media los eventos de señalización rápida dependientes de estrógenos (Figura 10), así como la activación transcripcional, independientemente de los receptores ER $\alpha$  y ER $\beta$ . Las consecuencias de su activación en diferentes tipos de células, particularmente en las células tumorales, son la regulación del crecimiento celular, la migración y la muerte celular apoptótica (Cimmino *et al.*, 2019).



**Figura 10.** Efectos del E2 después de unirse a sus receptores. Vía genómica: (I) El complejo E2/ER puede unirse a elementos de respuesta de estrógenos dentro del promotor de genes diana o regula la transcripción de genes al interactuar con otros factores de transcripción. (II) E2/ER activa las vías de transducción de señalización, lo que lleva a la fosforilación de ER u otros factores de transcripción que modulan la expresión génica. En la acción no genómica: (III) Los RE activados por E2 conducen a respuestas tisulares rápidas a través de la fosforilación de cascadas de señalización citosólica. (IV)

GPER media predominantemente la señalización E2 rápida y no genómica mediante la participación de varias quinasas, canales iónicos y segundos mensajeros. (V) GPER también participa en la regulación de la expresión génica. (VI) Las acciones genómicas y no genómicas ER/GPER celulares y mitocondriales iniciadas por E2 modulan la respiración mitocondrial, la producción de ATP y la formación de especies reactivas el oxígeno (ROS) (indicadas por flechas rojas). (Mahmoodzadeh & Dworatzek *et al.*, 2019)

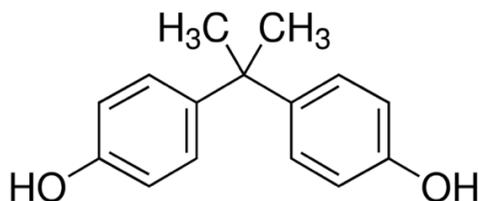
## 2.3 Bisfenol A

### 2.3.1 Estructura y características

El bisfenol A (BPA) o 2,2-bis (4-hidroxifenil) propano (Figura 11) es un monómero que posee 2 grupos fenol y se genera mediante una condensación entre un grupo acetona y un fenol catalizada por ácido, generalmente utilizando reactores de flujo con resinas de intercambio iónico (Prokop *et al.*, 2004). Se sintetizó por primera vez en 1891, sin embargo, sus propiedades estrogénicas se plantearon como hipótesis hasta la década de 1930 (Rochester, 2013) y fueron demostradas en 1938 por Dodds y Lawson. Es completamente soluble en solventes orgánicos y parcialmente soluble en agua, existe a temperatura ambiente en forma de copos o cristales sólidos blancos y su pureza es del 99 al 99,8%, según el fabricante (Zielisnka *et al.*, 2019).

Se describe como un disruptor endocrino capaz de interactuar con varios receptores fisiológicos, como los receptores de estrógenos (ER $\alpha/\beta$ ), el receptor de estrógeno  $\gamma$ , el receptor de andrógenos (AR) y el receptor de la hormona tiroidea (Siracusa *et al.*, 2018). Puede unirse y activar al receptor de estrógeno humano pero con una capacidad de 1000 a 5000 veces menor que el 17 $\beta$ -estradiol endógeno (Geens *et al.*, 2012), sin embargo, puede ser equipotente a este en algunos de sus efectos (Peretz *et al.*, 2014).

Una gran cantidad de estudios publicados vinculan al BPA con efectos adversos para la salud en modelos de laboratorio, vida silvestre e *in vitro* de mamíferos y no mamíferos, por lo que fue clasificado como sustancia tóxica para la reproducción de categoría 3 como sustancia alarmante para la fertilidad humana (Rochester, 2013).



**Figura 11.** Estructura del BPA.

### 2.3.2 Usos y vías de exposición

El BPA se utiliza en la industria como un intermediario importante en la producción de resinas y polímeros: policarbonato (PC), epoxi, polisulfona (PSU), poliacrilato, polieterimida (PEI), poliéster insaturado y sustancias fenólicas. Confiere características deseables a dichos productos y, por lo tanto, se usa ampliamente en diversos productos como botellas, revestimientos, tuberías, selladores dentales, envases de alimentos, juguetes para niños, esmaltes de uñas, materiales ignífugos, equipo médico y electrónico, papel térmico, entre otros (Zielisnka *et al.*, 2019). El uso de BPA se puede dividir en dos categorías: una en la que se modifica o polimeriza la estructura química del BPA y otra en la que se usa BPA como aditivo (Geens *et al.*, 2012).

Cualquier BPA residual que no haya reaccionado y que quede en los productos de policarbonato y las resinas epoxi puede filtrarse a los alimentos o al medio ambiente. El policarbonato es generalmente estable, pero algo de BPA puede liberarse del policarbonato cuando se expone a condiciones de luz ultravioleta o calor intenso. Las resinas epoxi elaboradas con BPA son estables; solo se espera que se libere BPA residual de ellas (Rochester, 2013).

Alrededor del mundo, los humanos están expuestos con frecuencia a bajos niveles de BPA, principalmente derivados de envases de alimentos y bebidas, por tanto la exposición oral es la más frecuente (Vandenberg *et al.*, 2007). El BPA se dispersa y se puede encontrar en desechos industriales residuales, aire interior y exterior, muestras de polvo y muestras de agua. En consecuencia, los seres humanos están continuamente expuestos al BPA también a través de rutas distintas de las exposiciones orales más comúnmente verificadas (Manukyan *et al.*, 2019).

Debido a la creciente preocupación por la seguridad del BPA y su ubicuidad en el medio ambiente, su uso fue prohibido en la fabricación y comercialización de biberones en la Unión Europea (UE) en 2011 (Directiva, 2011/8 / UE). Algunos Estados miembros de la UE han introducido nuevas prohibiciones sobre el uso de BPA en materiales y revestimientos en contacto con alimentos, como Dinamarca, Bélgica, Suecia y Francia. Francia ha adoptado medidas más restrictivas al prohibir el BPA en todos los materiales de envasado de alimentos (Björnsdotter *et al.*, 2017).

Se ha detectado BPA en la orina, el líquido amniótico, la sangre de adultos y neonatos, la placenta, la sangre del cordón umbilical y la leche materna humana en un rango de niveles que se sabe que son biológicamente activos ( $>10 \mu\text{g/L}$ ). Más recientemente, incluso se ha detectado BPA en los calcetines de los bebés, lo que

destaca el nuevo papel de los textiles como fuente potencial de exposición (Alonso-Magdalena *et al.*, 2015; Freire *et al.*, 2019).

### 2.3.3 Efectos generales en la salud

#### 2.3.3.1 Metabolismo

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) y la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) habían establecido que una dosis de 50 µg/kg por día era la dosis "segura" (Vandenberg *et al.*, 2007; Ding *et al.*, 2014). Sin embargo, algunos estudios comenzaron a observar efectos a dosis más bajas por lo que establecieron la dosis de 4 µg/kg/d como la ingesta diaria tolerable temporal (t-TDI) (EFSA, 2017). En cuanto al nivel en que no se observa efecto adverso (NOAEL) y el efecto observado más bajo actual (LOAEL) se han reportado dosis que van de 5 a 50 mg/kg/d. Sin embargo, estos datos no han sido actualizados y se comienzan a considerar obsoletos, por lo que se ha propuesto utilizar una dosis de 2.5 µg/kg/día como el nuevo LOAEL y su uso en lugar de NOAEL (Vom Saal & Vandenberg, 2020).

El BPA se metaboliza de manera rápida *in vivo* en el hígado por medio de reacciones de conjugación con ácido glucurónico y sulfatos, produciendo metabolitos de BPA-glucurónido y BPA-sulfato, que subsecuentemente son excretados en las heces fecales y en la orina. Estos metabolitos han sido previamente caracterizados como compuestos relativamente no tóxicos en relación con el BPA con respecto a la alteración endócrina y los efectos citotóxicos (Liu *et al.*, 2017).

#### 2.3.3.2 Efectos en humanos

Aunque se han llevado a cabo múltiples estudios en animales que confirman los efectos del BPA en diferentes sistemas y órganos, no se han podido extrapolar a seres humanos, puesto que aún son insuficientes las investigaciones hechas en estos últimos. Al ser la mayoría estudios epidemiológicos, existen factores externos que no se pueden controlar tan fácilmente, o bien, que no se toman en cuenta; resultando en contradicciones entre los diferentes estudios, los cuales, están centrados en los efectos del BPA en la reproducción.

En las mujeres, el BPA se ha asociado con alteraciones en los niveles hormonales, en los que se han detectado niveles altos de testosterona, E2 y progesterona en la orina de generalmente mujeres adolescentes, con funciones reproductivas deterioradas o con Síndrome de ovario poliquístico (SOP) (Scinicariello *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2017). Se han realizado estudios que demuestran un deterioro de la función ovárica y uterina, en los que se ha sugerido que los niveles de BPA en la

orina están asociados con un aumento en el riesgo de desarrollar SOP y una disminución del recuento de folículos antrales (Akin *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2017). En cuanto a la morfología uterina, se ha asociado al BPA con la endometriosis pélvica no ovárica, pues se encontró que a medida que aumentaban las concentraciones urinarias del disruptor endócrino, la pared endometrial era más gruesa en mujeres jóvenes y más delgada en mujeres mayores (Upson *et al.*, 2014; Mínguez-Alarcón *et al.*, 2015).

En cuanto a los hombres, se ha examinado la asociación entre la exposición al BPA y la calidad y producción del esperma. Algunos estudios mostraron niveles altos de BPA en la orina asociado con una disminución en el recuento y la motilidad de los espermatozoides debido a una fragmentación mayor del ADN espermático (Meeker *et al.*, 2010; Lassen *et al.*, 2014; Goldstone *et al.*, 2015). También, se ha encontrado que la concentración urinaria de BPA se asocia con los niveles hormonales debido al aumento de testosterona, hormona luteinizante y E2 en adultos (Lassen *et al.*, 2014), mientras que en niños y adolescentes, el BPA se relacionó con niveles más bajos de testosterona total (Scinicariello *et al.*, 2016).

Un hallazgo importante fue que en las células de Sertoli humanas, la exposición al BPA disminuyó la viabilidad celular, los niveles de expresión de ocludina, ZO-1,  $\beta$ -catenina y AR a una dosis de 20  $\mu$ M (de Freitas *et al.*, 2016). Las células de Sertoli y Leydig juegan un papel crucial en el mantenimiento de las funciones normales de la espermatogénesis. Las funciones de las células de Sertoli incluyen la formación de la barrera hemato-testicular, proteínas de secreción y factores de crecimiento que nutren y regulan la apoptosis y la mitosis de las células germinales (Haywood *et al.*, 2003; Lui *et al.*, 2003). Las células de Leydig son responsables de sintetizar y secretar testosterona para apoyar la espermiogénesis (Payne *et al.*, 1990).

Otros estudios en humanos han mostrado evidencia de que la exposición gestacional a BPA está asociada con comportamientos de ansiedad, depresión e hiperactividad en niños, particularmente en las niñas (Braun *et al.*, 2011). Por otro lado, en pacientes adultos, las altas concentraciones del BPA urinario se han relacionado con el diagnóstico de enfermedades cardiovasculares y enfermedad arterial periférica y coronaria, así como una mayor incidencia de hipertensión, reducción de la frecuencia cardíaca, la función tiroidea alterada y la función hepática alterada, la cual está correlacionada significativamente con elevaciones de las enzimas hepáticas fosfatasa alcalina y lactato deshidrogenasa (Rochester *et al.*, 2013).

### 2.3.3.3 Efectos en modelos animales

Los datos actuales de estudios experimentales han sugerido que la exposición al BPA afecta negativamente a la calidad y maduración de los ovocitos, disminuye la producción y calidad de los espermatozoides, daña las células testiculares, altera los niveles hormonales, la función ovárica y la morfología uterina en modelos animales (Siracusa *et al.*, 2018).

En ratas Wistar, la exposición pre y posnatal a dosis bajas de BPA resultó en una disminución del peso de los ovarios, el número de folículos y cuerpos lúteos, y, como consecuencia, en un retraso en la apertura vaginal (Li *et al.*, 2014; Santamaría *et al.*, 2016). Zhou y col. (2015) informaron que la exposición al BPA disminuyó la degradación del nido de células germinales y alteró la expresión de genes clave implicados en la apoptosis y la antioxidación en ovarios de ratones CD-1 *in vitro*. Un estudio sobre la exposición al BPA en los ovarios de ratones de la generación 1 dio como resultado una relación de dosis no monotónica con varios efectos transgeneracionales encontrados en la generación 3. Estos datos indicaron la posibilidad de que el BPA cause alteraciones epigenéticas, que se transmiten de forma transgeneracional, y puedan afectar la fertilidad, la espermatogénesis y la actividad social y conductual de la descendencia (Berger *et al.*, 2016).

Múltiples estudios analizaron los efectos de la exposición gestacional a dosis bajas de BPA y encontraron un número reducido de espermátidas alargadas en los túbulos seminíferos de ratones púberes y una reducción del recuento de espermatozoides en ratas (Okada y Kai, 2008; Salian *et al.*, 2009). Otras investigaciones en ratones y ratas muestran que la exposición prenatal y posnatal a dosis bajas de BPA afectó negativamente la producción y la calidad del esperma, mostrando disminución del número de espermatozoides, inducción de apoptosis y estrés oxidativo de los espermatozoides, así como alteración de la morfología de los túbulos seminíferos (Rochester *et al.*, 2013; Siracusa *et al.*, 2018).

Algunos estudios *in vitro* e *in vivo*, han demostrado que la exposición al BPA afectó la proliferación y esteroidogénesis de las células de Sertoli y Leydig de roedores, respectivamente. Además, los resultados de los estudios experimentales indicaron que la exposición al BPA puede estar asociada con una disminución de los niveles hormonales en los animales machos y sugirió efectos directos del BPA en las células de Sertoli y Leydig (Peretz *et al.*, 2014).

Gamez y col. (2014) informaron que la exposición a dosis bajas de BPA conducía a un aumento de los niveles séricos de LH y FSH pero sin cambios en los niveles de

testosterona, en la descendencia de ratas Wistar. Por el contrario, un estudio realizado en ratas Wistar macho adultas encontró que la exposición al BPA disminuyó los niveles séricos de testosterona, LH y FSH y aumentó el nivel de E2, reduciendo la producción de esperma (Wisniewski *et al.*, 2015).

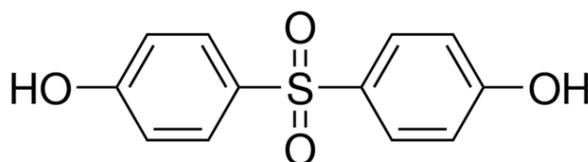
## 2.4 Bisfenol S

### 2.4.1 Estructura y características

El bisfenol S (BPS) es un compuesto orgánico que se obtiene a partir de una reacción de deshidratación de un fenol en combinación con un agente sulfonante o ácido fenolsulfónico en presencia de un disolvente no polar aromático, para después mezclar la suspensión de reacción con un disolvente polar para la precipitar la 4,4'-dihidroxidifenilsulfona, o bien, bisfenol S (Figura 12) (Ogata *et al.*, 2008).

En comparación con el BPA, el BPS tiene la ventaja de poseer estabilidad al calor y a la luz, y por lo tanto se ha introducido en diversas aplicaciones industriales como una alternativa a este. Tiene una vida media más larga y no es susceptible de biodegradación. Por lo tanto, es más probable que se acumule y persista en el medio ambiente. En comparación con una gran cantidad de estudios sobre BPA, la investigación sobre BPS se ha mantenido bastante limitada (Helies-Toussaint *et al.*, 2014).

Chen *et al.* (2002) demostraron por primera vez que tenía una actividad estrogénica débil. Desde entonces, un número creciente de estudios han confirmado que el BPS confiere toxicidad endocrina y reproductiva en los organismos. La evidencia reciente sugiere que el BPS es tan hormonalmente activo como el BPA y también es capaz de inducir efectos disruptores endocrinos.



**Figura 12.** Estructura del BPS. © 2020 Merck KGaA

### 2.4.2 Usos y vías de exposición

Se sintetizó por primera vez en 1869 para ser usado como un tinte, pero a medida que aumentó la preocupación con respecto a los efectos tóxicos del bisfenol A (BPA), lo ha reemplazado gradualmente en muchos productos de consumo (Liao *et al.*, 2012). Esencialmente, el BPS es uno de los análogos de bisfenol más viables

que ha logrado un crecimiento magnífico paralelo a la producción de BPA (Qiu *et al.*, 2019).

Actualmente, el BPS es utilizado en la fabricación de plásticos, resinas epóxicas, recubrimientos para diversas aplicaciones, como revestimientos, adhesivos, empaques para alimentos, papel térmico, productos para el cuidado personal que incluyen maquillaje, pasta de dientes, gel de baño y en polietersufonas, uno de los materiales disponibles en el mercado como reemplazo de los biberones de policarbonato (Helies-Toussaint *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2019).

La exposición al BPS se ha vuelto rápida y generalizada, y se ha detectado ampliamente en el agua (Yang *et al.*, 2014; Yamasaki *et al.*, 2015), alimentos, polvos, sedimentos y orina humana (Mandrah *et al.*, 2020). La ingesta dietética parece ser la fuente principal de exposición humana a BPS pues ha sido detectado en varias muestras de alimentos, incluidos alimentos enlatados, cereales y productos a base de cereales, carne y productos cárnicos, pescado y mariscos, huevos, leche y productos lácteos, verduras, frutas y bebidas de China, EE. UU. y algunos productos de países europeos. Sin embargo, el contacto con papel térmico en forma de recibos de venta también es común, pudiendo ingresar al sistema a través del manejo de alimentos (Qiu *et al.*, 2019).

Se ha encontrado BPS en la sangre de adultos (0.40 ng/mL), suero sanguíneo materno y del cordón umbilical (<0.03-0.07, 0.03-0.12 ng/mL, respectivamente) y en leche materna a una concentración de 0,23 ng/g, lo que sugiere que el BPS puede atravesar la barrera placentaria y que los bebés pueden estar expuestos durante la gestación y la lactancia (Deceuninck *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2017; Jin *et al.*, 2018).

#### 2.4.3 Efectos generales en la salud

##### 2.4.3.1 Metabolismo

De acuerdo a la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria, la ingesta diaria estimada de BPS es de 9.55 ng/kg de peso corporal/día para los hombres y de 9.56 ng/kg de peso corporal/día para las mujeres (Liao *et al.*, 2014). El NOAEL para la toxicidad sistémica general es de 60 mg/kg de peso corporal por día, mientras que el LOAEL es de 180 mg/kg de peso corporal por día en ambos sexos (EFSA, 2020).

Zhou y col. (2013) informaron que, en humanos, el BPS se metaboliza predominantemente a través de reacciones de conjugación y que el 97% del BPS detectado en la orina humana se encontraba como la forma conjugada. Las reacciones a través de las cuales se metaboliza el BPS son la hidroxilación en la

posición orto del anillo fenólico y la glucuronidación, siendo el hígado el sitio principal en el que se llevan a cabo.

La glucuronidación es la vía metabólica predominante del BPS en humanos, pues el BPS hidroxilado también termina sufriendo esta reacción, la cual, cabe destacar, también es una vía de desintoxicación, ya que, en contraste con el BPS, el glucurónido de BPS está inactivo como agonista o antagonista de los ER (Skledar *et al.*, 2016).

#### 2.4.3.2 Efectos en humanos

Un estudio demostró que el BPS redujo de manera no monotónica la secreción basal de testosterona en los testículos fetales humanos y exhibió efectos antiandrogénicos (Eladak *et al.*, 2015). El BPS disminuye más fácilmente la espermatogénesis e inhibe la placentación temprana en líneas celulares humanas (Thoene *et al.*, 2020). Además, en una línea celular de carcinoma adrenocortical humano (H295R), se encontró que afecta la síntesis de progesterona, cortisol, testosterona y la expresión de genes involucrados en las vías de aldosterona y cortisol (Feng *et al.*, 2016; Rosenmai *et al.*, 2014).

Recientemente se ha sugerido que el BPS podría desempeñar un papel en el desarrollo de cáncer de mama, puesto que este reguló positivamente el nivel de expresión de los genes relacionados con el desarrollo del cáncer modificando el estado de metilación de sus promotores en líneas celulares humanas (Huang *et al.*, 2019). También existen varios estudios epidemiológicos en los que se sugiere que el BPS puede alterar la duración del embarazo (Wan *et al.*, 2018).

Boucher y col. (2016) demostraron por primera vez que el BPS puede inducir la acumulación y diferenciación de lípidos en preadipocitos humanos primarios. Posteriormente, se observó que, en las células madre embrionarias humanas, el BPS aumentó la expresión celular de genes adipogénicos y provocó la acumulación de triglicéridos (Wang *et al.*, 2017).

Un estudio epidemiológico en China concluyó que la exposición ambiental tanto a BPA como a BPS, podría estar asociada con un mayor riesgo de hipertensión y niveles elevados de presión arterial para la población en general (Jiang *et al.*, 2020). Varios estudios también han indicado que la exposición a BPS podría inducir obesidad (Wu *et al.*, 2018) al promover la acumulación y diferenciación de lípidos en los preadipocitos humanos.

#### 2.4.3.3 Efectos en modelos animales

Antes del uso generalizado del BPS se realizó un número limitado de experimentos toxicológicos. Se informó que exhibe efectos adversos tanto *in vitro* como *in vivo* en múltiples organismos modelo, que van desde modelos de pez cebra a mamíferos (Kinch *et al.*, 2015; Rosenmai *et al.*, 2014; Rosenfeld 2017). Puede ejercer efectos genotóxicos, citotóxicos y neurotóxicos con un potencial de disrupción endocrina y complicaciones relacionadas, especialmente en la exposición temprana (Qiu *et al.*, 2019).

Se describió que el BPS exhibe actividades estrogénicas y antiandrogénicas al actuar directamente sobre los receptores de estrógenos y andrógenos (Molina-Molina *et al.*, 2013; Roelofs *et al.*, 2015) o al disminuir la secreción basal de testosterona por los testículos fetales (Eladak *et al.*, 2015). Además, se ha demostrado que la exposición perinatal desestabiliza la homeostasis de los lípidos y de la glucosa en crías de ratones hembra (Meng *et al.*, 2018).

Los estudios *in vivo* muestran que las concentraciones plasmáticas e intratesticulares de testosterona se redujeron en ratas macho expuestas a distintas concentraciones de BPS, además de que condujo a un aumento del peso uterino de ratas hembras (Yamasaki, 2004; Ullah *et al.*, 2016). Ji y col. (2013) encontraron que el BPS perturbaba los circuitos de retroalimentación reguladora del eje hipotálamo-hipófisis-gónada afectando negativamente el desarrollo de la descendencia del pez cebra. También se encontró que los efectos del BPS pueden tener una influencia significativa sobre el sexo de los organismos como en el pez cebra que presentó una proporción de sexos sesgada a favor de las hembras (Naderi *et al.*, 2014). Así mismo, la exposición de ratones hembra preñadas y crías a concentraciones de 2-200 µg de BPS/kg/día aumentó la expresión del receptor ER $\alpha$  en las hembras expuestas a BPS en la generación F0 (Catanese y Vandenberg, 2017).

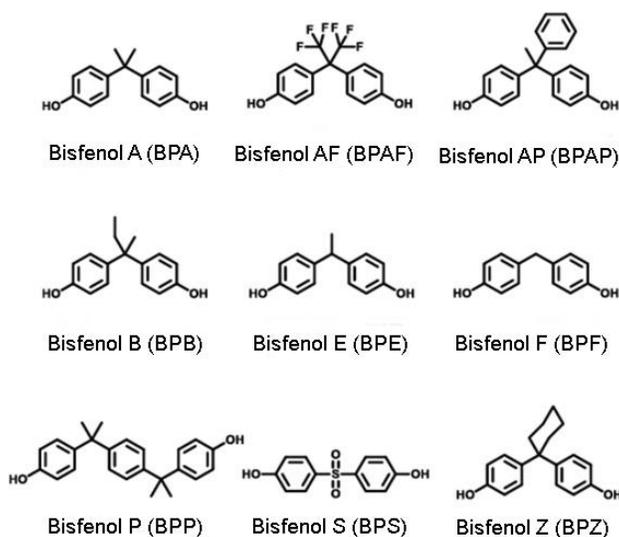
En los estudios *in vitro*, se encontró que el BPS altera algunos niveles hormonales y la expresión de genes hormonales en varias líneas celulares. Por ejemplo, la secreción de hormonas esteroides y la expresión de genes implicados en las vías esteroidogénicas y la biosíntesis de colesterol se alteraron en células MA-10 Leydig murinas (roedores) (Roelofs *et al.*, 2015). También se ha observado regulación hormonal y actividad estrogénica débil del BPS en ensayos transcripcionales basados en levadura (Chen *et al.*, 2002), en ensayos de transactivación basados en hepatocitos embrionarios de pollo (Ma *et al.*, 2015), en larvas de embriones de pez cebra (Zhang *et al.*, 2017), en adipocitos primarios humanos (Verbanck *et al.*, 2017) y en ovocitos de cerdo (Zalmanová *et al.*, 2017).

## 2.5 Otros derivados del bisfenol

A medida que aumenta la comercialización de productos etiquetados como libres de BPA, sus análogos se utilizan cada vez más en la fabricación de productos de consumo. Los análogos del BPA comparten la estructura básica de bisfenol de dos anillos de benceno separados por un carbono corto u otra cadena (García-Córcoles *et al.*, 2028). Además del BPS, el bisfenol F (BPF), bisfenol B (BPB), bisfenol E (BPE), bisfenol AF (BPAF), bisfenol AP (BPAP) y bisfenol Z (BPZ) (Figura 13) son utilizados por la industria como sustitutos del BPA en la producción de policarbonatos y resinas epoxi (Kitamura *et al.*, 2005; Feng *et al.*, 2012; García-Córcoles *et al.*, 2018) para la fabricación de productos industriales y de consumo (Ándujar *et al.*, 2019).

Existe un número limitado de estudios sobre los efectos hormonales de los análogos del BPA, pero la mayoría muestra que provocan efectos en la salud similares a los causados por el BPA (Liao *et al.*, 2012; Punt *et al.*, 2019). Se ha demostrado que ejercen actividades estrogénicas menores, iguales e incluso mayores al BPA (Chen *et al.*, 2016; Mesnage *et al.*, 2017; Moreman *et al.*, 2017).

Dado que estudios recientes en animales han demostrado que la exposición a análogos de bisfenol como BPS, BPF y BPAF inducen un patrón similar de alteración neuroconductual al BPA (Rosenfeld, 2017), existe una necesidad urgente de nuevos enfoques de monitoreo que puedan abordar oportunamente los posibles riesgos planteados por análogos de bisfenol para evitar lamentables sustituciones de BPA y otras sustancias químicas ambientales (Muestieles *et al.*, 2020).



**Figura 13.** Análogos del BPA. (Kojima,2019)

### Capítulo 3. Efecto de los disruptores endócrinos en el páncreas

#### 3.1 El 17 $\beta$ -estradiol y la homeostasis de la glucosa e insulina

A través de sus diversas hormonas, particularmente el glucagón y la insulina, el páncreas mantiene los niveles de glucosa en sangre dentro de un rango muy estrecho (4-6 mM). Esta preservación se logra mediante las acciones opuestas y equilibradas del glucagón y la insulina, conocida como homeostasis de la glucosa (Röder *et al.*, 2016).

Además del desarrollo y la reproducción sexual, los estrógenos tienen funciones importantes en otros tejidos. La asociación entre los niveles de estrógenos y la homeostasis de la glucosa está claramente demostrada en humanos. Por ejemplo, en mujeres postmenopáusicas la incidencia de la intolerancia a la glucosa y la resistencia a la insulina es mayor que en las mujeres premenopausicas e igual o equivalente a la encontrada en hombres (Rettberg *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2014).

Como ya se ha mencionado, la insulina es producida y secretada por las células  $\beta$  pancreáticas, y su producción y secreción están reguladas principalmente por la glucosa. Las concentraciones fisiológicas del 17 $\beta$ -estradiol (100pM-10nM) potencian las oscilaciones de Ca<sup>2+</sup> inducidas por glucosa en las células  $\beta$  lo que, en consecuencia produce un aumento en la liberación de insulina (Nadal *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2016).

Por lo tanto, la exposición prolongada a concentraciones fisiológicas de E2 en sinergia con la estimulación de la concentración de glucosa aumenta el contenido de insulina, los niveles de ARNm de insulina y la liberación de insulina. Además, existe evidencia que sugiere la participación de los receptores de estrógeno en estos efectos (Alonso-Magdalena *et al.*, 2008; Soriano *et al.*, 2011).

##### 3.1.1 Receptores de estrógeno (RE) y las células $\beta$

La participación de los RE en el metabolismo de los lípidos y la glucosa se ha demostrado en ratones ER- $\alpha/\beta$  knockout que muestran mayor adiposidad, resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa (Heine *et al.* 2000). Por ello, se considera a los receptores de estrógenos como moléculas importantes para la homeostasis de la glucosa (Barros *et al.*, 2006; Ropero *et al.*, 2008) ya que además están involucrados en la adaptación de la función de las células  $\beta$  pancreáticas a la resistencia a la insulina durante los períodos donde cambian los niveles de estrógenos, como la pubertad, el embarazo y la menopausia (Nadal *et al.*, 2009).

Tanto en roedores como humanos, las células  $\beta$  pancreáticas expresan ambos tipos de receptores de estrógeno (ER- $\alpha/\beta$ ) mayormente en el citoplasma y estos están involucrados en diversos aspectos fisiológicos (Nadal *et al.*, 2004). Gracias a estudios en ratones ER-knockout, se sabe que ER $\alpha$ , por medio de la interacción con E2, brinda protección contra la muerte celular de las células  $\beta$  causada por citocinas proinflamatorias (Contreras *et al.*, 2002; Le May *et al.*, 2006); mientras que la activación de ER $\beta$  en las células  $\beta$  está involucrada en la regulación rápida de los canales KATP y la secreción de insulina, regulando la expresión de ciclina D2 y Pdx1, en comparación con ER $\alpha$  (Alonso-Magdalena *et al.*, 2011; Soriano *et al.*, 2011; Whitehead *et al.*, 2016).

En resumen, E2 potencia rápidamente los sistemas de señalización de las células  $\beta$  y la liberación de insulina a través de los RE, un efecto que es imitado por los disruptores endócrinos, incluido el BPA (Nadal *et al.*, 2011).

### 3.2 Efectos del BPA en el páncreas

#### 3.2.1 Exposición directa (F0)

##### 3.2.1.1 Efectos en machos

En modelos de ratas macho Wistar prepúberes y adultos se ha encontrado que la exposición oral a BPA, en dosis que van desde los 50  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  hasta 200  $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$ , altera la tolerancia a la glucosa e insulina, con cambios en la metilación de Pdx1, la disminución de la expresión del mRNA del receptor de la insulina y Akt, así como el aumento de la expresión de GLUT2 en dosis altas de 20 y 200  $\text{mg}$ . También provoca un aumento de la masa de las células  $\beta$ , junto con la alteración en la expresión de mRNA involucrados en el metabolismo de estas células que se ven agravados con dietas altas en grasa (Jayashree *et al.*, 2013; Ding *et al.*, 2014; Rahmani *et al.*, 2020).

En ratones OF-1 de 2 meses expuestos a una dosis baja de BPA (10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ ) por vía subcutánea por 4 días se presentó hiperinsulemia crónica, tolerancia a la glucosa e insulina alteradas y aumento de insulina en las células  $\beta$ , mientras que a una dosis de 100  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ , el BPA moduló la expresión de más de 50 genes que codifican subunidades importantes de los canales Na $^{+}/\text{K}^{+}$  de las células  $\beta$  (Alonso-Magdalena *et al.*, 2006; Martínez-Pinna *et al.*, 2019).

Ratones C57BL/6 de 3-6 semanas expuestos por 12 semanas a una dosis de 10  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  de BPA por vía oral mostraron una mayor tolerancia a la glucosa a los 5 meses, la cual se deterioró al año de edad, mientras que a una dosis alta de 10  $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$ , estos efectos no se observaron (Rashid *et al.*, 2020). A una dosis de 50-500  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$  por 8 semanas también se presentó tolerancia a la glucosa alterada

y un aumento compensatorio de la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS) de los islotes y la expresión de Pdx1 (Wei *et al.*, 2017). Por otro lado, se encontró que el gen miR-338 regulaba Pdx1 mediante la activación del receptor de estrógeno acoplado a proteína G (GPER). Una dieta alta en grasas junto con una exposición a BPA a largo plazo (50 µg/kg/día por 12 semanas) provocó una reducción en la fosforilación de Akt y GSK3b en el músculo esquelético pero sin afectaciones en el peso corporal o de las células β (Moon *et al.*, 2015). En un experimento *ex vivo*, en islotes pancreáticos de ratones de 14 semanas, el BPA moduló la expresión y función de los canales de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> por medio del ERβ e indujo alteraciones en la actividad eléctrica de las células β (Martínez-Pinna *et al.*, 2019).

### 3.2.1.1 Efectos en hembras

En ratas F344/DuCrI preñadas se observó un 80% de aumento de la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS) en una dosis oral de BPA de 0.5 µg/kg/día administrada del día 3 de gestación hasta el día 22 posnatal (GD3-PN22), por el contrario, a una dosis más alta, de 50 µg/kg/día, la GSIS disminuyó un 40% (Manukyan *et al.*, 2019).

En ratonas OF-1 preñadas y expuestas a dosis de 10 y 100 µg/kg/día de BPA por vía subcutánea del GD9 a GD16 hubo un aumento de la resistencia a la insulina inducida por la gestación, y una disminución en la tolerancia a la glucosa y GSIS, además de que disminuyó la fosforilación de Akt en el hígado y en el músculo esquelético. En cuanto a las células β, éstas exhibieron una disminución de la masa y la capacidad de proliferación, con una expresión disminuida de la ciclina D2. Además, se incrementó la tasa de apoptosis de las células β, así como la expresión de los genes que la regulan, p16 y p53. Finalmente, después del parto, el peso corporal, la concentración de insulina, leptina y triglicéridos aumentaron. Cabe mencionar que los ratones hembra no preñadas no presentaron ninguno de dichos efectos después de la exposición a BPA; sin embargo, se presentaron algunos cambios cuando se les sometió a una dieta alta en grasas, al presentar disminución del peso corporal y niveles altos de ácidos grasos y triglicéridos (Alonso-Magdalena *et al.*, 2010; Van Esterik *et al.*, 2014; Alonso-Magdalena *et al.*, 2015).

En un estudio en el que se evaluaron los efectos del BPA durante la menopausia, los ratones suizos ovariectomizados expuestos por vía oral (90 días) a 1 µg/kg/día de BPA mostraron un aumento en el número y masa de islotes por sección de páncreas, así como la masa de las células β. Una dieta alta en grasa afectó la hiperplasia compensadora de células de los islotes en respuesta a la resistencia a insulina inducida por la dieta, acompañada de una regulación positiva en la

expresión de los genes que codifican a los receptores ER- $\beta$  y GPR30 y una disminución en la expresión de Pdx1, NGN3 y ciclina D2 junto con el aumento de TNF- $\alpha$  y IL-1  $\beta$ , todo sin alterar la GSIS (Oliveira et.al., 2020).

### 3.2.2 Efectos en la primera generación (F1)

#### 3.2.2.1 Epigenética: efectos multi y transgeneracionales

De acuerdo con diversos estudios, ha surgido evidencia que sugiere que los DE no solo afectan la salud de la población directamente expuesta, sino también de las generaciones posteriores. Esto tiene profundas implicaciones para la salud pública, pues aunque es posible que ya no se utilice una sustancia química, los efectos pueden persistir en las generaciones futuras (Bansal *et al.*, 2018). La gran mayoría de los factores ambientales y tóxicos carecen de la capacidad de alterar la secuencia del ADN o de promover mutaciones genéticas. Sin embargo, el medio ambiente puede influir drásticamente en los procesos epigenéticos para alterar la expresión de genes (McCarrey, 2012).

Se le conoce como epigenética a la adaptación estructural de regiones cromosómicas para registrar, señalar o perpetuar estados de actividad alterados, es decir, mecanismos por los cuales la cromatina se altera químicamente (a través de modificaciones de ADN e histonas) o estructuralmente (a través de la remodelación de cromatina y la interacción entre ADN y ADN intracromosómico) (Bird, 2007; Chen *et al.*, 2017). Actualmente, los procesos moleculares epigenéticos actualmente conocidos son la metilación del ADN, las modificaciones de histonas, el ARN funcional no codificante y la estructura de la cromatina (Skinner, 2014). Todos estos procesos epigenéticos son importantes y tienen distintas funciones en la regulación de cómo se expresan los genes en el genoma y son independientes de la secuencia de ADN.

La epigenética proporciona un mecanismo molecular para que el medio ambiente altere directamente la biología de un organismo (Jirtle y Skinner, 2007). Para la mayoría de los disruptores endócrinos (DE), los compuestos no metabolizados son la forma más activa, también conocida como el tóxico final. Al entrar en el torrente sanguíneo, el tóxico final ahora es capaz de alcanzar y actuar sobre sus células diana. Si la célula diana es una célula germinal, las alteraciones epigenéticas que se producen y sus fenotipos asociados pueden persistir a lo largo de generaciones. Debido a que la maquinaria de desintoxicación aún se está desarrollando en el feto y el recién nacido, estas poblaciones son particularmente susceptibles a los DE, y sus células germinales representan objetivos de efectos multi o transgeneracionales inducidos por DE (Aubert *et al.*, 2012; Xin *et al.*, 2015)

Si una madre embarazada (F0) se expone a un estímulo adverso, su descendencia (designada como F1) puede verse afectada como consecuencia de la exposición directa al mismo estímulo en el útero. Además, debido a que las células germinales de la descendencia F1 se están desarrollando durante la gestación, su descendencia, es decir, los nietos de F0 (designados F2) también están directamente expuestos, por lo que, los efectos observados en esta generación se considerarían multigeneracionales. Entonces, los efectos observados en la descendencia de F2 (generación F3) que no tuvo exposición directa al estímulo original serían transgeneracionales (Xin *et al.*, 2015).

Por otra parte, cuando la exposición ocurre a través del padre F0, se observan efectos transgeneracionales en la generación F2, ya que la única otra generación directamente expuesta al estímulo original es la futura descendencia F1, que está expuesta como célula germinal (Heard *et al.*, 2014).

El feto y el recién nacido representan poblaciones particularmente vulnerables a la exposición a los DE. El desarrollo temprano requiere una sincronización precisa de la acción hormonal para que se lleve a cabo el crecimiento adecuado de tejidos y órganos, y los DE pueden interferir con las actividades endógenas de estas hormonas. Además, las enzimas implicadas en la biotransformación de agentes xenobióticos y los procesos necesarios para eliminar estos compuestos no están completamente desarrollados en dichas etapas (de Wildt *et al.*, 1999; Choudhary *et al.*, 2003; Xin *et al.*, 2015).

### 3.2.2.2 Exposición a BPA en la gestación

Los ratones OF-1 machos expuestos a 10 y 100 µg/kg/día de BPA (vía subcutánea) durante los días 9-16 de gestación, tuvieron menor peso al nacer y al día 30 aumentaron tanto la insulina como el péptido C en el plasma. En la dosis más baja, la secreción y el contenido de insulina disminuyeron. En ambas dosis, al día PN20, hubo alteración en los niveles de glucosa en ayunas y la masa de las células β se mantuvo igual o disminuyó en comparación con el grupo control. Al día 30 hubo un aumento de la masa y proliferación de las células β así como una disminución en la apoptosis de las mismas. A los 6 meses, los ratones exhibieron una disminución en la tolerancia a la glucosa y en el número de células β, así como un aumento de la resistencia a insulina con niveles elevados de insulina, leptina, triglicéridos y glicerol. A los 7 meses, los ratones mostraron alteración en la homeostasis de la glucosa: con una disminución en los niveles de insulina en el plasma, así como de glucosa y GSIS acompañado de una disminución en la masa y proliferación de las células β junto con expresión de ciclina D2 y aumento en la expresión de proteínas p15 y p53 (García-Arévalo *et al.*, 2010; Alonso-Magdalena *et al.*, 2015; García-Arévalo *et al.*,

2016). Dichos efectos coinciden con otro estudio en ratones en el que a una dosis de 100 µg/kg/día de BPA durante DG6- post-natal 0 (PN0), la homeostasis de la glucosa se vio afectada a 3 y 6 meses, y esto continuó hasta los 8 meses en machos, pero no en hembras (Liu *et al.*, 2013).

En cuanto a la exposición a BPA por vía oral en F0, a una dosis más alta (25 mg/kg/día, durante 10 días de gestación) los ratones fetales mostraron, en el DG18 una mayor agrupación de células de islotes y un aumento tanto la expresión de glucagón en los islotes como el número de agrupaciones de células de islotes que expresan glucagón (Van Esterik *et al.*, 2014; Whitehead *et al.*, 2016).

### 3.2.2.3 Exposición a BPA desde la gestación hasta el destete

Wei *et al.* demostraron que en la descendencia adulta de ratas Wistar expuestas los DG0-PN21 (vía oral) a una dosis de 50 µg/kg/día de BPA, hubo un aumento del peso corporal, insulina sérica y un deterioro de la tolerancia a glucosa. Estos efectos fueron agravados por una dieta alta en grasas, observándose síndrome metabólico severo que incluía obesidad, hiperglucemia, hiperinsulemia e intolerancia a la glucosa (Wei *et al.*, 2011).

En la descendencia de ratones CD-1 expuestos a 0.25 µg/kg/día de BPA durante los DG0-PND21 se presentó un aumento del peso corporal en hembras y machos a las 3 semanas. A las 4 semanas, los machos aumentaron de tamaño en comparación con el grupo control, cambios que desaparecieron en la adultez. No se encontraron cambios en la tolerancia a glucosa. Algo similar sucedió con la descendencia de madres F0 expuestas por vía subcutánea (GD8-PND21) a dosis desde 0.25 a 250 µg/kg/día de BPA, en quienes no hubo incremento en el peso corporal sino hasta el destete en hembras (F1). Las crías tampoco exhibieron ningún cambio en la homeostasis de la glucosa (Ryan *et al.*, 2010; Rubin *et al.*, 2017).

Por el contrario, en ratones F344/DuCrI expuestos a BPA por vía oral (materna F0) desde el DG3 hasta el día PN22 a una dosis de 0.5 µg/kg/día se observó un 50% de aumento en la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS) de tanto en machos como hembras a las 5 y 52 semanas. Por el contrario, a una dosis más alta, de 50 µg/kg/día, la GSIS disminuyó un 40%. (Manukyan *et al.*, 2019). En ratones C57BL/6 expuestos también por vía oral (materna F0) a 10 µg/kg/día y 10 mg/kg/día de BPA durante el período DG0-PN21, se observó que a las 21 semanas hubo un aumento en la secreción de insulina alterada en machos; ambas dosis provocaron la inflamación de los islotes también en machos. La dosis alta afectó la función mitocondrial y la dosis baja redujo la masa y aumentó la muerte de las células β (Bansal *et al.*, 2017).

#### 3.2.2.4 Exposición en la gestación a más largo plazo

García-Árevalo y colaboradores (2014) estudiaron el efecto de la exposición a BPA a largo plazo en ratones. A una dosis de BPA de 10 µg/kg/día, los ratones machos (expuestos vía subcutánea desde DG 9-16 hasta las 13 y 24 semanas de edad) presentaron bajo peso al nacer y disrupción de GSIS, especialmente cuando se les alimentó con una dieta alta en grasas. A las 17 semanas aumentó el contenido de insulina en los islotes con una dieta alta en grasas, pero no a las 28 semanas. También presentaron disminución en la fosforilación de Akt y GSK3B pero no hubo cambios en el área de los islotes o en el contenido de insulina en las células β (García-Arévalo *et al.*, 2014).

En otro estudio, la descendencia (hembras) expuesta a BPA del DG8-PN35, mostró un incremento de peso junto con un aumento en los niveles de glucosa e insulina así como una disminución de la sensibilidad a la insulina a las 34 semanas en las dosis de 2.5 y 25 µg/kg/día de BPA (Rubin *et al.*, 2017).

#### 3.2.2.4 Exposición neonatal a BPA

En ratones C57BL6 tratados con 100 µg/kg/día de BPA del PND0-PND21, solo la descendencia masculina de 3 meses desarrolló intolerancia a la glucosa. Además, a la edad de 3 meses, aumentó la masa de células β debido a los cambios en la replicación celular, en la neogénesis y en la apoptosis. Las alteraciones en la secreción de insulina y en la sensibilidad a la insulina, más que la masa de células β, fueron consistentes con el desarrollo de intolerancia a la glucosa (Liu *et al.*, 2013).

#### 3.2.3 Efectos de la exposición a BPA en la segunda y tercera generación (F2 y F3)

Los ratones F2 C57BL/6 de 16-21 semanas expuestos a BPA 10 µg/kg/día y 10 mg/kg/día como células germinales de F1 durante la gestación y lactancia (se expuso por vía oral a la F0 del GD0-PND21) mostraron secreción de insulina alterada e inflamación de los islotes en machos. Se afectó la función mitocondrial, se redujo la masa de las células β y aumentó su muerte, así como la expresión de Igf2 (Bansal *et al.*, 2017).

En roedores F1 expuestos vía paterna (oral) a BPA a una dosis de 10 µg/kg/día y 10 mg/kg/día no se observaron efectos reproductivos o metabólicos en la descendencia adulta F2 (Ding *et al.*, 2014; Rashid *et al.*, 2020). Sin embargo, después de una exposición por la línea germinal masculina (la misma F1 tuvo exposición materna durante el desarrollo) a las mismas dosis anteriores, se observó

que las crías hembras F2, a los 4-7 meses, mostraron tolerancia a la glucosa alterada en ausencia de resistencia a insulina además de un aumento de GSIS (Rashid *et al.*, 2020). Anteriormente, se evaluó la exposición vía paterna a una dosis de 40 µg/kg/día, en ratas machos F2 de 3-21 semanas, los cuales mostraron una disminución en la expresión de Igf2, junto con una hipermetilación de este mismo gen en los islotes, estos efectos también se observaron en las hembras F2, pero fueron menos pronunciados (Mao *et al.*, 2015).

En cuanto a estudios de la tercera generación F3, se sabe que los ratones machos de 21 semanas, expuestos vía F2 a 10 µg/kg/día y 10 mg/kg/día de BPA tuvieron un peso corporal aumentado; sin embargo, la tolerancia a la glucosa no se vio afectada. Los ratones expuestos a la dosis baja mostraron masa de células β reducida e islotes más pequeños, lo que se asoció con una mayor secreción de insulina estimulada por glucosa. Similar a lo que observaron Bansal *et al.* (2017) en la descendencia masculina F1 y F2, para F3 la tinción para marcadores de células T y macrófagos aumentó en el páncreas, lo que se asoció con cambios en los niveles de citocinas. En contraste, las hembras F3 tuvieron un peso corporal, tolerancia a la glucosa y secreción de insulina comparables a los de los controles. Por lo tanto, la exposición materna al BPA resultó en menos defectos metabólicos en la descendencia F3 que en la descendencia F1 y F2, y estos fueron específicos por sexo y dosis (Bansal *et al.*, 2018).

### 3.3 Efectos de BPS en la homeostasis de la glucosa

Como ya se ha mencionado, el uso del BPS como sustituto del BPA es relativamente reciente, por lo que se tiene una limitada cantidad de estudios pertinentes a la homeostasis de la glucosa. Se ha demostrado que el BPS puede contribuir al desarrollo de la obesidad, ya que este es capaz unirse a receptores nucleares en los tejidos grasos (Rezg *et al.*, 2018). También se ha mostrado que la exposición a 80 µM de BPS aumenta el contenido de triacilglicerol (TG) en células 3T3-L1 y en concentraciones de 0.1 mM, en dichas células, se ha sugerido que el BPS está involucrado en la obesidad y en la esteatosis debido al aumento en el contenido de lípidos intracelulares (Masuno *et al.*, 2005; Helies-Toussaint *et al.*, 2014), pudiendo inducir adipogénesis y afectar la diferenciación de preadipocitos humanos primarios. Algunas investigaciones han sugerido que la exposición a BPS aumenta significativamente el aclaramiento de triglicéridos en plasma, alterando la expresión de ARNm de genes marcadores involucrados en el metabolismo de los lípidos y la adipogénesis, incluyendo el receptor de insulina y supresor de la señalización de citocinas 3 en ratones machos (Boucher *et al.*, 2016; Del Moral *et al.*, 2016)

Las ratas Wistar macho F0 de 7-8 semanas, a dosis de BPS 0.05 y 5 mg/kg/día de BPS (90 días) exhibieron niveles aumentados de glucosa, lo que indica la manifestación de hiperglucemia. El perfil metabólico del suero y la orina reveló que el BPS podría causar una alteración metabólica consecuente, principalmente de aminoácidos, hidratos de carbono y ácidos orgánicos. La descripción general del perfil de metabolitos perturbados en ratas mostró prometedores marcadores de diagnóstico temprano de condición hiperglucémica desencadenada debido a la exposición de dicho DE (Mandrah *et al.*, 2020)

En ratones hembras adultas, diabéticas, no obesas (NOD) que siguieron un tratamiento de 30 µg/kg/día de BPS con una dieta a base de soja se retrasó significativamente el desarrollo de la diabetes Tipo 1 y disminuyeron los niveles de glucosa en sangre. Por el contrario, los machos expuestos a BPS mostraron una mayor resistencia a la insulina y niveles de glucosa en sangre variados. Por lo tanto, el BPS tuvo efectos dependientes del sexo y de la dieta sobre la diabetes tipo 1 y la homeostasis de la glucosa, que probablemente fueron causados por otros mecanismos, además de la inmunomodulación (Xu *et al.*, 2019).

Recientemente se ha encontrado que el BPS, a concentraciones de 1 nM, aumentó rápidamente la liberación de insulina y disminuyó la actividad del canal de K<sup>+</sup> sensible al ATP de las células β en ratones WT, pero no se observaron efectos en células de ratones BERKO, lo que sugiere la participación de vías de ERβ iniciadas por extranucleares (Marroqui *et al.*, 2021).

En cuanto a efectos multigeneracionales, en ratas Wistar F1, la exposición perinatal (DG7- PND21) al BPS (100 ng/g/día) aumentó significativamente el peso corporal, el peso del hígado y del tejido adiposo blanco, la actividad de la alanina aminotransferasa (ALT) sérica y el contenido de triglicéridos (TG) y colesterol (T-Cho) en el hígado. Además, las expresiones de genes implicados en las vías inflamatorias aumentaron significativamente en los tejidos del hígado y tejido adiposo epididimal (epiWAT). Mientras tanto, el estudio de metabolómica sérica mostró cambios significativos en el contenido de metabolitos asociados con el metabolismo de lípidos y glucosa. En consecuencia, los niveles de expresión relativa de genes implicados en el metabolismo de lípidos y de glucosa cambiaron significativamente en el tejido hepático y epiWAT de la descendencia de ratones machos (Meng *et al.*, 2019).

### 3.4 Discusión

#### 3.4.1 Los efectos de los DE son dependientes de distintos factores.

En el caso de los ratones machos F0, los efectos del BPA no difieren mucho entre dosis, vía de administración o edad. En general, se altera la homeostasis de la glucosa con una disminución de la tolerancia a glucosa, insulina y GSIS, el cual aumenta más adelante como un mecanismo compensatorio (Alonso-Magdalena *et al.*, 2006; Martínez-Pinna *et al.*, 2019). También hay alteraciones en los genes de la señalización de insulina, como la disminución de la fosforilación de Akt y el aumento de Pdx1, junto con un aumento en la masa y en la insulina en las células  $\beta$  (Moon *et al.*, 2015; Wei *et al.*, 2017; Rashid *et al.*, 2020) el cual se normaliza en los adultos, aunque con el mantenimiento de las alteraciones en la actividad eléctrica. Todos esos efectos se agravan cuando se combina el BPA con una dieta alta en grasas, además de que son dependientes del sexo, ya que, en hembras, el BPA no parece causar alteraciones más que en las dietas altas en grasas (Alonso-Magdalena *et al.*, 2015).

Sin embargo, en las hembras preñadas, el BPA a largo plazo altera la homeostasis de la glucosa con una disminución de la tolerancia a glucosa y un aumento de la resistencia a la insulina, con una disminución de la GSIS que depende de la dosis. En los machos, la exposición al BPA a largo plazo, disminuye la fosforilación de Akt, y en el caso de las células  $\beta$ , la masa y la proliferación disminuyen al mismo tiempo que aumenta la apoptosis. Finalmente, en las hembras ovariectomizadas, los efectos del BPA coinciden con los de los machos expuestos a corto plazo al aumentar el número y masa de las células  $\beta$ ; sin embargo, al añadir una dieta alta en grasas, disminuye la expresión de Cíclina D2 y Pdx1, junto con un aumento de factores de la apoptosis (Alonso-Magdalena *et al.*, 2010; Van Esterik *et al.*, 2014; Alonso-Magdalena *et al.*, 2015; Manukyan *et al.*, 2019).

Por otro lado, los efectos multigeneracionales en F1 varían dependiendo tanto del sexo como el tiempo y momento de exposición. En roedores machos, cuando la exposición al BPA se da solamente en la gestación, en la vida fetal existe un aumento de células  $\alpha$  que expresan glucagón y en las primeras semanas posnatales, aumenta la proliferación y masa de las células  $\beta$ , efectos que, a los 7 meses disminuyen junto con la tolerancia a glucosa y GSIS provocando un aumento de la resistencia a insulina y apoptosis de las células  $\beta$  (García-Arévalo *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2013; Alonso-Magdalena *et al.*, 2015; García-Arévalo *et al.*, 2016). Estos últimos efectos se pueden observar desde las primeras semanas de vida, cuando la exposición a BPA se ha extendido hasta la lactancia, y se ven agravados con el tiempo, en el que ocurre un aumento de GSIS dependiente de la dosis (al igual que en las hembras F0 preñadas), inflamación de los islotes y disminución de la

proliferación de las células  $\beta$  (Ryan *et al.*, 2010; Wei *et al.*, 2011; Bansal *et al.*, 2017; Rubin *et al.*, 2017; Manukyan *et al.*, 2019). Además de la exposición durante los períodos de gestación y lactancia, cuando se sigue administrando BPA a largo plazo, los roedores machos F1 presentan cambios en la fosforilación de factores de la señalización de la insulina pero sin cambios en las células  $\beta$ . Los roedores hembras no parecen verse afectados de la misma manera por el BPA materno; a una dosis baja administrada hasta el destete, las hembras presentan un aumento de peso, el cual se normaliza en la adultez mientras que, a una dosis más alta y a largo plazo, solamente exhiben aumentos de glucosa e insulina (García-Arévalo *et al.*, 2014; Rubin *et al.*, 2017). Finalmente, cuando la exposición es neonatal, es decir, únicamente en la lactancia, solo los machos, en los primeros meses, exhiben intolerancia a la glucosa, aumento de la masa de las células  $\beta$  y GSIS alterada (Liu *et al.*, 2013).

Por lo que corresponde a las generaciones posteriores, en F2 persistieron los efectos de la GSIS alterada, inflamación de los islotes y disminución de la masa de las células  $\beta$  en machos (Bansal *et al.*, 2017), mientras que las hembras exhibieron tolerancia a la glucosa alterada, aumento de GSIS sin resistencia a insulina, pero solo cuando la vía fue paterna (F1 que fue expuesto a BPA vía materna) (Ding *et al.*, 2014; Mao *et al.*, 2015; Rashid *et al.*, 2020). Por último, en los machos F3 también tuvieron se observó una reducción en la masa de las células  $\beta$ , islotes más pequeños y aumento de GSIS (Bansal *et al.*, 2018).

Con el BPS también se pueden observar efectos en el metabolismo de los lípidos e indicios de resistencia a insulina, que incluyen obesidad e hiperglucemia. Al igual que el BPA, los efectos son dependientes del sexo, afectando más a los machos y además, pueden ser multigeneracionales (Rezg *et al.*, 2018; Meng *et al.*, 2019; Mandrah *et al.*, 2020).

#### 3.4.2 Riesgo de diabetes y otras enfermedades metabólicas

Las manifestaciones de la resistencia a insulina incluyen aumento del peso corporal, dislipidemia, hiperglucemia e intolerancia a la glucosa, lo que conduce a una variedad de enfermedades metabólicas, incluyendo la diabetes tipo 2 (T2DM), enfermedad del hígado graso no alcohólico, enfermedades cardiovasculares, cáncer, entre otras. Es posible la existencia de diferentes mecanismos que pueden contribuir a la etiología de la resistencia a la insulina según los órganos objetivo (Petersen *et al.*, 2018). En la mayoría de los casos, la T2DM se desarrolla debido a una reducción progresiva en la respuesta del páncreas para producir suficiente insulina para compensar la resistencia a esta. Eso significa que requiere defectos

tanto en la función de las células  $\beta$  como en la sensibilidad a la insulina (Kahn, 2003).

Dentro del tejido adiposo, la inflamación juega un papel clave en el desarrollo de la resistencia a la insulina. Se sabe que los niveles elevados de citocinas inflamatorias, como IL6 y TNF $\alpha$  resultan en una disminución de la señalización de la insulina (Kim *et al.* 2008, Muoio y Newgard, 2008, Samuel y Shulman, 2012). Una disminución de la fosforilación de AKT y GSK3 $\beta$  en el músculo esquelético indica una menor respuesta a la insulina y, por lo tanto, de resistencia a la insulina en el músculo, que podría ser un mecanismo por el cual el BPA induce la intolerancia a la glucosa. De hecho, el músculo esquelético es el sitio predominante para la captación de glucosa mediada por insulina (Moon *et al.*, 2015).

Los mecanismos de adaptación como la secreción mejorada de insulina (hiperinsulinemia) previenen la hiperglucemia. Sin embargo, la hiperactividad crónica de las células  $\beta$  agota las capacidades de adaptación del páncreas, lo que conduce a una disminución de la producción de insulina en respuesta a la glucosa y al aumento de la resistencia a la insulina con un aumento adicional de los ácidos grasos libres en el plasma a través de procesos de autoamplificación, lo que finalmente conduce a la diabetes tipo 2.

Se ha descrito que la masa de células  $\beta$  es fundamental para el funcionamiento adecuado del páncreas endocrino, así como para la biosíntesis y secreción de insulina. Es importante destacar que los tres receptores de estrógeno (ER $\alpha$ , ER $\beta$  y el ER acoplado a proteína G (GPER)) se han identificado en células  $\beta$  humanas y de roedores, donde desempeñan funciones esenciales en la supervivencia y función de los islotes (Nadal *et al.*, 2011; Tiano y Mauvais-Jarvis, 2012). El BPA, en dosis dentro del rango de exposición humana, modula la división de células  $\beta$ , lo que conduce a un incremento de la masa de células  $\beta$  durante el desarrollo (Boronat-Belda *et al.*, 2020). La supresión genética de la ciclina D2 en ratones produce una disminución de la proliferación de células y de la masa y, eventualmente, el desarrollo de diabetes dependiente de la edad. También se ha informado que varios inhibidores del ciclo celular están involucrados en la reducción progresiva de la masa de células  $\beta$ . Se ha propuesto un papel significativo para p16 y p53, cuya expresión se sabe que aumenta a medida que las células envejecen y también se ha relacionado con la diabetes (Kushner *et al.*, 2005). Por tanto, debido a la acción estrogénica-mimética del BPA (Dodds y Lawson, 1936), se sugiere que su exposición probablemente interfiera con el desarrollo y la función del páncreas endocrino.

Los efectos del BPA son dependientes del sexo, esto se debe a que estudios tanto en humanos como en animales sugieren que el  $17\beta$ -estradiol, protege la producción de insulina en estados diabéticos (Le May *et al.*, 2006). Al tener mayores niveles de E2, la prevalencia de diabetes es menor en las mujeres (Wild *et al.*, 2004), esta protección es más pronunciada en los síndromes diabéticos con deficiencia grave de insulina (Gale y Gillespie, 2001). Además, en la mayoría de los modelos de diabetes en roedores, las hembras están protegidas de la muerte de las células  $\beta$  y la hiperglucemia, mientras que, a la inversa, los machos desarrollan una diabetes manifiestamente deficiente en insulina (Contreras *et al.*, 2002).

No obstante, los estados de embarazo y menopausia carecen de dicha protección debido a que, en la menopausia los niveles de E2 bajan debido a la pérdida de la función ovárica, mientras que en el embarazo, existe la probabilidad de desarrollar diabetes mellitus gestacional, la cual se presenta como intolerancia a la glucosa relacionada con la elevación de los niveles de E2 y otras hormonas maternas. La diabetes mellitus gestacional se diagnostica por primera vez durante el embarazo y afecta aproximadamente del 1% al 14% de todos los embarazos y aunque la tolerancia normal a la glucosa generalmente se restablece en el período posparto, existe un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus en el futuro, el cual se agrava con la exposición a BPA (Alonso-Magdalena *et al.*, 2015). También se debe de tomar en cuenta que la expresión hepática de la proteína 2 asociada a la resistencia a múltiples fármacos, que excreta conjugados químicos como el BPA glucuronido, se reduce durante el embarazo (Inoue *et al.*, 2004), por lo que las madres gestantes están expuestas a mayores niveles de BPA.

Por esto mismo, la exposición de la descendencia durante el embarazo es crítica, además de que los órganos clave están experimentando crecimiento y diferenciación. Inicialmente, el concepto de "origen fetal de enfermedades adultas" sugirió que un desajuste entre la expectativa fetal del ambiente postnatal y el ambiente postnatal real podría contribuir al riesgo de enfermedad en adultos (Gluckman y Hanson, 2004). En las ratas fetales, la actividad de glucuroniltransferasa, enzima que cataliza la glucuronidación del BPA, está ausente y se desarrolla después del nacimiento, aunque está reducida en ratas preñadas (Matsumoto *et al.* 2002). El feto tiene sistemas vulnerables de metabolización de fármacos, el BPA glucuronido se transfiere a través de la placenta al feto y luego afecta adversamente al feto mediante la reactivación a BPA (Nishikawa *et al.*, 2010).

El aumento de la expresión de glucagón en los roedores fetales podría tener efectos adversos sobre la función y la morfología de las células  $\beta$  más adelante en la vida (Wei *et al.*, 2011), pues las células  $\alpha$  son las primeras células identificables primarias en el páncreas y se ha demostrado que la desregulación de la expresión de

glucagón se atribuye a alteraciones en las interacciones paracrinias entre las células  $\alpha$  y  $\beta$  (Fowden y Hill, 2001; Gelling *et al.*, 2009).

La acumulación de BPA en la descendencia puede ser diferente entre los grupos con diferentes tiempos de exposición continua. Es posible que, un tiempo de exposición más corto induzca más daño que un tiempo más largo. Tanto los períodos fetales como los neonatales son susceptibles a la exposición (Liu *et al.*, 2014), coinciden con las ventanas críticas del desarrollo del páncreas, tiene efectos duraderos sobre la función pancreática y, en última instancia, conducen a una disfunción metabólica durante la edad adulta, especialmente para la etapa fetal en la que la disfunción de las células  $\beta$  persiste durante mucho tiempo, teniendo implicaciones a largo plazo en el metabolismo de la glucosa. Por lo tanto, las modificaciones de las células  $\beta$  en la descendencia como consecuencia de los mecanismos de señalización de estrógenos iniciados en la vida fetal y que conducen a un exceso de señalización de insulina durante la vida temprana pueden contribuir a la tolerancia deficiente a la glucosa observada durante la edad adulta (García-Arevalo *et al.* 2014). Cabe señalar que en los seres humanos el desarrollo principal del páncreas se completa antes del nacimiento (Liu *et al.*, 2014; Jennings *et al.*, 2015; Whitehead *et al.*, 2016).

La capacidad de los padres expuestos a BPA para producir descendencia con homeostasis de glucosa desregulada puede deberse al hecho de que la exposición durante el desarrollo en los machos provoca obesidad, intolerancia a la glucosa y disminución de GSIS (Susiarjo *et al.*, 2015). Por tanto, la presencia de diabetes en los padres expuestos al BPA puede ser un requisito previo para la transmisión fenotípica (Rashid *et al.*, 2020).

En resumen, el páncreas endocrino es el objetivo de la exposición al BPA con mecanismos posiblemente diferentes dependiendo de si la exposición ocurre durante la vida fetal, neonatal o en la edad adulta, cuyos efectos resultan ser multigeneracionales y transgeneracionales. Después de la exposición, ocurren alteraciones en la secreción de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas, o alteraciones de la acción de la insulina (mecanismos de señalización) sobre los órganos sensibles a la insulina (hígado, músculo, tejidos adiposos) debido a variaciones en los niveles de expresión de marcadores biológicos hepáticos o del tejido adiposo que son indicativos de un estado de resistencia a la insulina. Se ha demostrado que la homeostasis metabólica depende del sexo y de la edad. Si bien la mayoría de los estudios se realizaron en machos, algunos estudios también han examinado el impacto del BPA en ambos sexos o en las mujeres y apuntan a la especificidad sexual del impacto metabólico del BPA. Este constituye otro argumento a favor de un mecanismo de acción endocrino.

El BPS induce la obesidad de forma menos potente que el BPA y los mecanismos a dicha toxicidad pueden atribuirse a las características propias del BPS, incluidas sus interacciones con el RE, aunque al igual que el BPA, se ha visto una alteración en los canales de KATP mediante la interacción con el  $Er\beta$ . Sin embargo, estos cambios a nivel celular, no implican que haya una afectación en el páncreas endócrino, por lo que se necesitan llevar a cabo estudios tanto de tolerancia a la glucosa y GSIS como de la morfología del páncreas endócrino. (Qiu *et al.*, 2019; Marroqui *et al.*, 2021). En general, se ha proporcionado evidencia para indicar que el BPS no necesariamente representa una alternativa más segura al BPA. En el futuro, se deberían realizar investigaciones más a fondo sobre la toxicidad del BPS y otros sustitutos del BPA, en el páncreas endócrino.

## Conclusiones

- Los disruptores endócrinos BPA y BPS no solo tienen efectos en los sistemas reproductores, sino también en el metabolismo de la glucosa de los roedores, debido a que son capaces de afectar al páncreas endócrino mediante la unión a los RE de las células  $\beta$ , interrumpiendo las acciones protectoras del  $17\beta$ -estradiol en el páncreas, dando como resultado funciones endocrinas alteradas.
- El BPA altera la homeostasis de la glucosa mediante cambios funcionales en las células  $\beta$ , induciendo intolerancia a la glucosa, alterando la sensibilidad a la insulina y la GSIS, cuyos efectos se ven más agravados cuando la exposición es subcutánea y cuando se combina con una dieta alta en grasas. Estas alteraciones pueden llevar a la resistencia a la insulina, que a su vez conlleva al desarrollo de T2DM.
- El BPA en F0 afecta más a los machos que a las hembras, las cuales no presentan efectos significativos a menos que estén preñadas u ovariectomizadas.
- El BPA y BPS presentan efectos a través de las generaciones. Con el BPS se han observado en la generación F1 (efectos multigeneracionales), mientras que con BPA, se han visto hasta la generación F3 (efectos multi y transgeneracionales). Dichos efectos se pueden observar tanto vía materna, como paterna.

- La exposición al BPA durante la gestación y neonatal son vías críticas para la alteración de la homeostasis de la glucosa, debido a que el páncreas se está desarrollando en estas etapas.

## Referencias

- Akın, L., Kendirci, M., Narin, F., Kurtoglu, S., Saraymen, R., Kondolot, M., ... & Elmalı, F. (2015). The endocrine disruptor bisphenol A may play a role in the aetiopathogenesis of polycystic ovary syndrome in adolescent girls. *Acta Paediatrica*, 104(4), e171-e177.
- Al-Mrabeh, A., Hollingsworth, K. G., Steven, S., & Taylor, R. (2016). Morphology of the pancreas in type 2 diabetes: effect of weight loss with or without normalisation of insulin secretory capacity. *Diabetologia*, 59(8), 1753-1759.
- Alonso-Magdalena, P., Ropero, A. B., Carrera, M. P., Cederroth, C. R., Baquie, M., Gauthier, B. R., ... & Nadal, A. (2008). Pancreatic insulin content regulation by the estrogen receptor ER $\alpha$ . *PLoS one*, 3(4), e2069.
- Alonso-Magdalena, P., Vieira, E., Soriano, S., Menes, L., Burks, D., Quesada, I., & Nadal, A. (2010). Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male offspring. *Environmental health perspectives*, 118(9), 1243-1250.
- Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., & Nadal, A. (2011). Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(6), 346-353.
- Alonso-Magdalena, P., García-Arévalo, M., Quesada, I., & Nadal, Á. (2015). Bisphenol-A treatment during pregnancy in mice: a new window of susceptibility for the development of diabetes in mothers later in life. *Endocrinology*, 156(5), 1659-1670.
- Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., & Nadal, A. (2015). Prenatal exposure to BPA and offspring outcomes: the diabetesogenic behavior of BPA. *Dose-Response*, 13(2), 1559325815590395.
- Andralojc, K. M., Mercalli, A., Nowak, K. W., Albarello, L., Calcagno, R., Luzi, L., ... & Piemonti, L. (2009). Ghrelin-producing epsilon cells in the developing and adult human pancreas. *Diabetologia*, 52(3), 486-493.
- Andújar, N., Gálvez-Ontiveros, Y., Zafra-Gómez, A., Rodrigo, L., Álvarez-Cubero, M. J., Aguilera, M., ... & Rivas, A. (2019). Bisphenol A analogues in food and their hormonal and obesogenic effects: a review. *Nutrients*, 11(9), 2136.

- Artner, I., Le Lay, J., Hang, Y., Elghazi, L., Schisler, J. C., Henderson, E., ... & Stein, R. (2006). MafB: an activator of the glucagon gene expressed in developing islet  $\alpha$ -and  $\beta$ -cells. *Diabetes*, 55(2), 297-304.
- Artner, I., Hang, Y., Mazur, M., Yamamoto, T., Guo, M., Lindner, J., ... & Stein, R. (2010). MafA and MafB regulate genes critical to  $\beta$ -cells in a unique temporal manner. *Diabetes*, 59(10), 2530-2539.
- Aubert, N., Ameller, T., & Legrand, J. J. (2012). Systemic exposure to parabens: pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-, propyl- and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3-4), 445-454.
- Bader, E., Migliorini, A., Gegg, M., Moruzzi, N., Gerdes, J., Roscioni, S. S., ... & Aichler, M. (2016). Identification of proliferative and mature  $\beta$ -cells in the islets of Langerhans. *Nature*, 535(7612), 430-434.
- Bankaitis, E. D., Bechard, M. E., & Wright, C. V. (2015). Feedback control of growth, differentiation, and morphogenesis of pancreatic endocrine progenitors in an epithelial plexus niche. *Genes & development*, 29(20), 2203-2216.
- Bansal, A., Rashid, C., Xin, F., Li, C., Polyak, E., Duemler, A., ... & Bartolomei, M. S. (2017). Sex- and dose-specific effects of maternal bisphenol A exposure on pancreatic islets of first- and second-generation adult mice offspring. *Environmental health perspectives*, 125(9), 097022.
- Bansal, A., Li, C., Xin, F., Duemler, A., Li, W., Rashid, C., ... & Simmons, R. A. (2019). Transgenerational effects of maternal bisphenol: a exposure on offspring metabolic health. *Journal of developmental origins of health and disease*, 10(2), 164-175.
- Barros, R. P., Machado, U. F., & Gustafsson, J. Å. (2006). Estrogen receptors: new players in diabetes mellitus. *Trends in molecular medicine*, 12(9), 425-431.
- Bastidas-Ponce, A., Scheibner, K., Lickert, H., & Bakhti, M. (2017). Cellular and molecular mechanisms coordinating pancreas development. *Development*, 144(16), 2873-2888.
- Barrett, K. E. (2013). *Ganong fisiología médica (24a)*. McGraw Hill Mexico.
- Bonner-Weir, S., Deery, D., Leahy, J. L., & Weir, G. C. (1989). Compensatory growth of pancreatic  $\beta$ -cells in adult rats after short-term glucose infusion. *Diabetes*, 38(1), 49-53.
- Burlison, J. S., Long, Q., Fujitani, Y., Wright, C. V., & Magnuson, M. A. (2008). Pdx-1 and Ptf1a concurrently determine fate specification of pancreatic multipotent progenitor cells. *Developmental biology*, 316(1), 74-86.
- Berger, A., Ziv-Gal, A., Cudiamat, J., Wang, W., Zhou, C., & Flaws, J. A. (2016). The effects of in utero bisphenol A exposure on the ovaries in multiple generations of mice. *Reproductive toxicology*, 60, 39-52.
- Bird, A. (2007). Perceptions of epigenetics. *Nature*, 447(7143), 396.
- Björnsdotter, M. K., de Boer, J., & Ballesteros-Gómez, A. (2017). Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere*, 182, 691-706.

- Braun, J. M., Kalkbrenner, A. E., Calafat, A. M., Yolton, K., Ye, X., Dietrich, K. N., & Lanphear, B. P. (2011). Impact of early-life bisphenol A exposure on behavior and executive function in children. *Pediatrics*, *128*(5), 873-882.
- Brosens, J. J., Tullet, J., Varshochi, R., & Lam, E. W. F. (2004). Steroid receptor action. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, *18*(2), 265-283
- Boronat-Belda, T., Ferrero, H., Al-Abdulla, R., Quesada, I., Gustafsson, J. A., Nadal, Á., & Alonso-Magdalena, P. (2020). Bisphenol-A exposure during pregnancy alters pancreatic  $\beta$ -cell division and mass in male mice offspring: A role for ER $\beta$ . *Food and Chemical Toxicology*, *145*, 111681.
- Boucher, J. G., Ahmed, S., & Atlas, E. (2016). Bisphenol S induces adipogenesis in primary human preadipocytes from female donors. *Endocrinology*, *157*(4), 1397-1407.
- Butler, A. E., Janson, J., Bonner-Weir, S., Ritzel, R., Rizza, R. A., & Butler, P. C. (2003).  $\beta$ -cell deficit and increased  $\beta$ -cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes*, *52*(1), 102-110.
- Cabrera, O., Berman, D. M., Kenyon, N. S., Ricordi, C., Berggren, P. O., & Caicedo, A. (2006). The unique cytoarchitecture of human pancreatic islets has implications for islet cell function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(7), 2334-2339.
- Cade, J. E., & Hanison, J. (2017). The pancreas. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, *18*(10), 527-531.
- Catanese, M. C., & Vandenberg, L. N. (2017). Bisphenol S (BPS) alters maternal behavior and brain in mice exposed during pregnancy/lactation and their daughters. *Endocrinology*, *158*(3), 516-530.
- Cimmino, I., D'Esposito, V., Liguoro, D., Liguoro, P., Ambrosio, M. R., Cabaro, S., ... & Valentino, R. (2019). Low-dose Bisphenol-A regulates inflammatory cytokines through GPR30 in mammary adipose cells. *Journal of Molecular Endocrinology*, *63*(4), 273-283.
- Chandra, J., Zhivotovsky, B., Zaitsev, S., Juntti-Berggren, L., Berggren, P. O., & Orrenius, S. (2001). Role of apoptosis in pancreatic beta-cell death in diabetes. *Diabetes*, *50*(suppl 1), S44.
- Chen, M. Y., Ike, M., & Fujita, M. (2002). Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. *Environmental Toxicology: An International Journal*, *17*(1), 80-86.
- Chen, Z., Li, S., Subramaniam, S., Shyy, J. Y. J., & Chien, S. (2017). Epigenetic regulation: a new frontier for biomedical engineers. *Annual review of biomedical engineering*, *19*, 195-219.
- Cheskis, B. J., Greger, J. G., Nagpal, S., & Freedman, L. P. (2007). Signaling by estrogens. *Journal of cellular physiology*, *213*(3), 610-617.
- Choudhary, D., Jansson, I., Schenkman, J. B., Sarfarazi, M., & Stoilov, I. (2003). Comparative expression profiling of 40 mouse cytochrome P450 genes in embryonic and adult tissues. *Archives of biochemistry and biophysics*, *414*(1), 91-100.
- Contreras, J. L., Smyth, C. A., Bilbao, G., Young, C. J., Thompson, J. A., & Eckhoff, D. E. (2002). 17 $\beta$ -Estradiol protects isolated human pancreatic islets against proinflammatory

cytokine-induced cell death: molecular mechanisms and islet functionality. *Transplantation*, 74(9), 1252-1259.

- Corsini, E., Ruffo, F., & Racchi, M. (2018). Steroid hormones, endocrine disrupting compounds and immunotoxicology. *Current Opinion in Toxicology*, 10, 69-73.
- Crespo-Castrillo, A., & Arevalo, M. A. (2020). Microglial and Astrocytic Function in Physiological and Pathological Conditions: Estrogenic Modulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3219.
- Danial, N. N., & Korsmeyer, S. J. (2004). Cell death: critical control points. *Cell*, 116(2), 205-219.
- de Freitas, A. T. A. G., Ribeiro, M. A., Pinho, C. F., Peixoto, A. R., Domeniconi, R. F., & Scarano, W. R. (2016). Regulatory and junctional proteins of the blood-testis barrier in human Sertoli cells are modified by monobutyl phthalate (MBP) and bisphenol A (BPA) exposure. *Toxicology In Vitro*, 34, 1-7.
- de Wildt, S. N., Kearns, G. L., Leeder, J. S., & van den Anker, J. N. (1999). Glucuronidation in humans. *Clinical pharmacokinetics*, 36(6), 439-452.
- Deceuninck, Y., Bichon, E., Marchand, P., Boquien, C. Y., Legrand, A., Boscher, C., ... & Le Bizec, B. (2015). Determination of bisphenol A and related substitutes/analogues in human breast milk using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 407(9), 2485-2497.
- Ding, S., Fan, Y., Zhao, N., Yang, H., Ye, X., He, D., Jin, X., Liu, J., Tian, C., Li, H., Xu, S., & Ying, C. (2014). High-fat diet aggravates glucose homeostasis disorder caused by chronic exposure to bisphenol A. *The Journal of endocrinology*, 221(1), 167-179.
- Dorrell, C., Schug, J., Canaday, P. S., Russ, H. A., Tarlow, B. D., Grompe, M. T., ... & Grompe, M. (2016). Human islets contain four distinct subtypes of  $\beta$  cells. *Nature communications*, 7(1), 1-9.
- Edlund, H. (2002). Pancreatic organogenesis—developmental mechanisms and implications for therapy. *Nature Reviews Genetics*, 3(7), 524-532.
- Eizirik, D. L., Pasquali, L., & Cnop, M. (2020). Pancreatic  $\beta$ -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. *Nature Reviews Endocrinology*, 16(7), 349-362.
- Eladak, S., Grisin, T., Moison, D., Guerquin, M. J., N'Tumba-Byn, T., Pozzi-Gaudin, S., ... & Habert, R. (2015). A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and sterility*, 103(1), 11-21.
- Elmadhun, N. Y., Lassaletta, A. D., Chu, L. M., Soh, I., & Sellke, F. W. (2012). Alcohol consumption alters the insulin signaling pathway in ischemic myocardium. *Journal of the American College of Surgeons*, 215(3), S35.
- Emamaullee, J. A., & Shapiro, A. J. (2006). Interventional strategies to prevent  $\beta$ -cell apoptosis in islet transplantation. *Diabetes*, 55(7), 1907-1914.
- European Food Safety Authority (EFSA), Gundert-Remy, U., Bodin, J., Bosetti, C., FitzGerald, R., Hanberg, A., ... & van Loveren, H. (2017). Bisphenol A (BPA) hazard assessment protocol. *EFSA Supporting Publications*, 14(12), 1354E.

- Fatrai, S., Elghazi, L., Balcazar, N., Cras-Méneur, C., Krits, I., Kiyokawa, H., & Bernal-Mizrachi, E. (2006). Akt induces  $\beta$ -cell proliferation by regulating cyclin D1, cyclin D2, and p21 levels and cyclin-dependent kinase-4 activity. *Diabetes*, 55(2), 318-325.
- Feng, Y., Yin, J., Jiao, Z., Shi, J., Li, M., & Shao, B. (2012). Bisphenol AF may cause testosterone reduction by directly affecting testis function in adult male rats. *Toxicology letters*, 211(2), 201-209.
- Feng, Y., Jiao, Z., Shi, J., Li, M., Guo, Q., & Shao, B. (2016). Effects of bisphenol analogues on steroidogenic gene expression and hormone synthesis in H295R cells. *Chemosphere*, 147, 9-19.
- Filardo, E. J., & Thomas, P. (2005). GPR30: a seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 16(8), 362-367.
- Finegood, D. T., Scaglia, L., & Bonner-Weir, S. (1995). Dynamics of  $\beta$ -cell mass in the growing rat pancreas: estimation with a simple mathematical model. *Diabetes*, 44(3), 249-256.
- Folli, F., La Rosa, S., Finzi, G., Davalli, A. M., Galli, A., Dick Jr, E. J., ... & Mendoza, R. G. (2018). Pancreatic islet of Langerhans' cytoarchitecture and ultrastructure in normal glucose tolerance and in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 20, 137-144.
- Fowden, A. L., & Hill, D. J. (2001). Intra-uterine programming of the endocrine pancreas. *British medical bulletin*, 60(1), 123-142.
- Fox, S. I., Sierra, G. P., & Bari, S. O. (2017). *Fisiología humana*. McGraw-Hill Interamericana.
- Gale, E. A., & Gillespie, K. M. (2001). Diabetes and gender. *Diabetologia*, 44(1), 3-15.
- Gámez, J. M., Penalba, R., Cardoso, N., Ponzo, O., Carbone, S., Pandolfi, M., ... & Reynoso, R. (2014). Low dose of bisphenol A impairs the reproductive axis of prepuberal male rats. *Journal of physiology and biochemistry*, 70(1), 239-246.
- García-Córcoles, M. T., Cipa, M., Rodríguez-Gómez, R., Rivas, A., Olea-Serrano, F., Vílchez, J. L., & Zafra-Gómez, A. (2018). Determination of bisphenols with estrogenic activity in plastic packaged baby food samples using solid-liquid extraction and clean-up with dispersive sorbents followed by gas chromatography tandem mass spectrometry analysis. *Talanta*, 178, 441-448.
- Geens, T., Aerts, D., Berthot, C., Bourguignon, J. P., Goeyens, L., Lecomte, P., ... & Van Looco, J. (2012). A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food and chemical toxicology*, 50(10), 3725-3740.
- Gelling, R. W., Vuguin, P. M., Du, X. Q., Cui, L., Rømer, J., Pederson, R. A., ... & Johansen, P. B. (2009). Pancreatic  $\beta$ -cell overexpression of the glucagon receptor gene results in enhanced  $\beta$ -cell function and mass. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(3), E695-E707.
- Gluckman, P. D., & Hanson, M. A. (2004). The developmental origins of the metabolic syndrome. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 15(4), 183-187.

- Gonzalez, T. L., Rae, J. M., & Colacino, J. A. (2019). Implications of Environmental Estrogen and Anti-androgen Exposure on Human Health: A focus on the Relationship Between Estrogenicity and Breast Cancer. *Toxicology*.
- Grube, D., & Bohn, R. (1983). The microanatomy of human islets of Langerhans, with special reference to somatostatin (D-) cells. *Archivum histologicum japonicum*, 46(3), 327-353.
- Gruber, C. J., Tschugguel, W., Schneeberger, C., & Huber, J. C. (2002). Production and actions of estrogens. *New England Journal of Medicine*, 346(5), 340-352.
- Haywood, M., Spaliviero, J., Jimenez, M., King, N. J., Handelsman, D. J., & Allan, C. M. (2003). Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone. *Endocrinology*, 144(2), 509-517.
- Heard, E., & Martienssen, R. A. (2014). Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell*, 157(1), 95-109.
- Héliès-Toussaint, C., Peyre, L., Costanzo, C., Chagnon, M. C., & Rahmani, R. (2014). Is bisphenol S a safe substitute for bisphenol A in terms of metabolic function? An in vitro study. *Toxicology and applied pharmacology*, 280(2), 224-235.
- Henley, D. V., Lindzey, J., & Korach, K. S. (2005). Steroid hormones. In *Endocrinology* (pp. 49-65). Humana Press.
- Hu, Q., Guan, X. Q., Song, L. L., Wang, H. N., Xiong, Y., Liu, J. L., ... & Ge, G. B. (2020). Inhibition of pancreatic lipase by environmental xenoestrogens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 192, 110305.
- Huang, W., Zhao, C., Zhong, H., Zhang, S., Xia, Y., & Cai, Z. (2019). Bisphenol S induced epigenetic and transcriptional changes in human breast cancer cell line MCF-7. *Environmental Pollution*, 246, 697-703.
- Husain, S., & Thrower, E. (2009). Molecular and cellular regulation of pancreatic acinar cell function. *Current opinion in gastroenterology*, 25(5), 466.
- Imai, J. (2018). Regulation of compensatory  $\beta$ -cell proliferation by inter-organ networks from the liver to pancreatic  $\beta$ -cells. *Endocrine journal*, EJ18-0241.
- Irshad, K., Rehman, K., Sharif, H., Tariq, M., Murtaza, G., Ibrahim, M., & Akash, M. S. H. (2020). Bisphenol A as an EDC in Metabolic Disorders. In *Endocrine Disrupting Chemicals-induced Metabolic Disorders and Treatment Strategies* (pp. 251-263). Springer, Cham.
- Jayashree, S., Indumathi, D., Akilavalli, N., Sathish, S., Selvaraj, J., & Balasubramanian, K. (2013). Effect of Bisphenol-A on insulin signal transduction and glucose oxidation in liver of adult male albino rat. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35(2), 300-310.
- Jouvét, N., & Estall, J. L. (2017). The pancreas: Bandmaster of glucose homeostasis. *Experimental cell research*, 360(1), 19-23.
- Ji, K., Hong, S., Kho, Y., & Choi, K. (2013). Effects of bisphenol S exposure on endocrine functions and reproduction of zebrafish. *Environmental science & technology*, 47(15), 8793-8800.

- Jiang, G., & Zhang, B. B. (2003). Glucagon and regulation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 284(4), E671-E678.
- Jiang, S., Liu, H., Zhou, S., Zhang, X., Peng, C., Zhou, H., ... & Lu, Q. (2020). Association of bisphenol A and its alternatives bisphenol S and F exposure with hypertension and blood pressure: A cross-sectional study in China. *Environmental Pollution*, 257, 113639.
- Kahn, S. E. (2003). The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia*, 46(1), 3-19.
- Kinch, C. D., Ibhazehiebo, K., Jeong, J. H., Habibi, H. R., & Kurrasch, D. M. (2015). Low-dose exposure to bisphenol A and replacement bisphenol S induces precocious hypothalamic neurogenesis in embryonic zebrafish. *Proceedings of the national academy of sciences*, 112(5), 1475-1480.
- Kitamura, S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., ... & Ohta, S. (2005). Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicological Sciences*, 84(2), 249-259.
- Kojima, S., Ueno, N., Asakawa, A., Sagiyama, K., Naruo, T., Mizuno, S., & Inui, A. (2007). A role for pancreatic polypeptide in feeding and body weight regulation. *Peptides*, 28(2), 459-463.
- Kojima, H., Takeuchi, S., Sanoh, S., Okuda, K., Kitamura, S., Uramaru, N., ... & Yoshinari, K. (2019). Profiling of bisphenol A and eight of its analogues on transcriptional activity via human nuclear receptors. *Toxicology*, 413, 48-55.
- Kumagai, S., Holmång, A., & Björntorp, P. (1993). The effects of oestrogen and progesterone on insulin sensitivity in female rats. *Acta physiologica Scandinavica*, 149(1), 91-97.
- Kushner, J. A., Ciemerych, M. A., Sicinska, E., Wartschow, L. M., Teta, M., Long, S. Y., ... & White, M. F. (2005). Cyclins D2 and D1 are essential for postnatal pancreatic  $\beta$ -cell growth. *Molecular and cellular biology*, 25(9), 3752-3762.
- Larsen, H. L., & Grapin-Botton, A. (2017, June). The molecular and morphogenetic basis of pancreas organogenesis. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 66, pp. 51-68). Academic Press.
- Lassen, T. H., Frederiksen, H., Jensen, T. K., Petersen, J. H., Joensen, U. N., Main, K. M., ... & Andersson, A. M. (2014). Urinary bisphenol A levels in young men: association with reproductive hormones and semen quality. *Environmental health perspectives*, 122(5), 478-484.
- Le May, C., Chu, K., Hu, M., Ortega, C. S., Simpson, E. R., Korach, K. S., ... & Mauvais-Jarvis, F. (2006). Estrogens protect pancreatic  $\beta$ -cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(24), 9232-9237.
- Li, Y., Zhang, W., Liu, J., Wang, W., Li, H., Zhu, J., ... & Wu, T. (2014). Prepubertal bisphenol A exposure interferes with ovarian follicle development and its relevant gene expression. *Reproductive toxicology*, 44, 33-40.
- Liao, C., Liu, F., Alomirah, H., Loi, V. D., Mohd, M. A., Moon, H. B., ... & Kannan, K. (2012). Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposures. *Environmental science & technology*, 46(12), 6860-6866.

- Liao, C., & Kannan, K. (2014). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from nine cities in China. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(2), 319-329.
- Liu, J., Li, J., Wu, Y., Zhao, Y., Luo, F., Li, S., ... & Martin, J. W. (2017). Bisphenol A metabolites and bisphenol S impaired maternal and cord serum. *Environmental science & technology*, 51(4), 2456-2463.
- Liu, B., Lehmler, H. J., Sun, Y., Xu, G., Sun, Q., Snetselaar, L. G., ... & Bao, W. (2019). Association of bisphenol A and its substitutes, bisphenol F and bisphenol S, with obesity in United States children and adolescents. *Diabetes & metabolism journal*, 43(1), 59-75.
- Lui, W. Y., Mruk, D., Lee, W. M., & Cheng, C. Y. (2003). Sertoli cell tight junction dynamics: their regulation during spermatogenesis. *Biology of reproduction*, 68(4), 1087-1097.
- Ma, M., Crump, D., Farmahin, R., & Kennedy, S. W. (2015). Comparing the effects of tetrabromobisphenol-A, bisphenol A, and their potential replacement alternatives, TBBPA-bis (2, 3-dibromopropyl ether) and bisphenol S, on cell viability and messenger ribonucleic acid expression in chicken embryonic hepatocytes. *Environmental toxicology and chemistry*, 34(2), 391-401.
- Magenheim, J., Ilovich, O., Lazarus, A., Klochendler, A., Ziv, O., Werman, R., ... & Dor, Y. (2011). Blood vessels restrain pancreas branching, differentiation and growth. *Development*, 138(21), 4743-4752.
- Mahmoodzadeh, S., & Dworatzek, E. (2019). The role of 17 $\beta$ -estradiol and estrogen receptors in regulation of Ca<sup>2+</sup> channels and mitochondrial function in cardiomyocytes. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 310.
- Mandrah, K., Jain, V., Ansari, J. A., & Roy, S. K. (2020). Metabolomic perturbation precedes glycolytic dysfunction and procreates hyperglycemia in a rat model due to bisphenol S exposure. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 77, 103372.
- Manukyan, L., Dunder, L., Lind, P. M., Bergsten, P., & Lejonklou, M. H. (2019). Developmental exposure to a very low dose of bisphenol A induces persistent islet insulin hypersecretion in Fischer 344 rat offspring. *Environmental research*, 172, 127-136.
- Marroqui, L., Martinez-Pinna, J., Castellano-Muñoz, M., Dos Santos, R. S., Medina-Gali, R. M., Soriano, S., ... & Nadal, A. (2021). Bisphenol-S and Bisphenol-F alter mouse pancreatic  $\beta$ -cell ion channel expression and activity and insulin release through an estrogen receptor ER $\beta$  mediated pathway. *Chemosphere*, 265, 129051.
- Matthews, J. B., Twomey, K., & Zacharewski, T. R. (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(2), 149-157.
- McCarthy, M. I. (2010). Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *New England Journal of Medicine*, 363(24), 2339-2350.
- McCarrey, J. R. (2012). The epigenome as a target for heritable environmental disruptions of cellular function. *Molecular and cellular endocrinology*, 354(1-2), 9-15.
- Meeker, J. D., Calafat, A. M., & Hauser, R. (2010). Urinary bisphenol A concentrations in relation to serum thyroid and reproductive hormone levels in men from an infertility clinic. *Environmental science & technology*, 44(4), 1458-1463.

- Meng, Y., Lin, R., Wu, F., Sun, Q., & Jia, L. (2018). Decreased capacity for sperm production induced by perinatal bisphenol a exposure is associated with an increased inflammatory response in the offspring of C57BL/6 male mice. *International journal of environmental research and public health*, 15(10), 2158.
- Mesnage, R., Phedonos, A., Arno, M., Balu, S., Corton, J. C., & Antoniou, M. N. (2017). Editor's highlight: transcriptome profiling reveals bisphenol A alternatives activate estrogen receptor alpha in human breast cancer cells. *Toxicological Sciences*, 158(2), 431-443.
- Mínguez-Alarcón, L., Gaskins, A. J., Chiu, Y. H., Williams, P. L., Ehrlich, S., Chavarro, J. E., ... & Hauser, R. (2015). Urinary bisphenol A concentrations and association with in vitro fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Human Reproduction*, 30(9), 2120-2128.
- Mimoto, M. S., Nadal, A., & Sargis, R. M. (2017). Polluted pathways: mechanisms of metabolic disruption by endocrine disrupting chemicals. *Current environmental health reports*, 4(2), 208-222.
- Molina-Molina, J. M., Amaya, E., Grimaldi, M., Sáenz, J. M., Real, M., Fernandez, M. F., ... & Olea, N. (2013). In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicology and applied pharmacology*, 272(1), 127-136.
- Moreman, J., Lee, O., Trznadel, M., David, A., Kudoh, T., & Tyler, C. R. (2017). Acute toxicity, teratogenic, and estrogenic effects of bisphenol A and its alternative replacements bisphenol S, bisphenol F, and bisphenol AF in zebrafish embryo-larvae. *Environmental Science & Technology*, 51(21), 12796-12805.
- Moullé, V. S., Ghislain, J., & Poitout, V. (2017). Nutrient regulation of pancreatic  $\beta$ -cell proliferation. *Biochimie*, 143, 10-17.
- Mühlemann, M. (2018). *Intestinal stem cells and the Na<sup>(+)</sup>-D-Glucose Transporter SGLT1: potential targets regarding future therapeutic strategies for diabetes* (Doctoral dissertation, Universität Würzburg).
- Murray, R. K., Bender, D. A., & Botham, K. M. (2010). *Harper: bioquímica ilustrada*. McGraw-Hill.
- Mustieles, V., d'Cruz, S. C., Couderq, S., Rodríguez-Carrillo, A., Fini, J. B., Hofer, T., ... & Fernández, M. F. (2020). Bisphenol A and its analogues: a comprehensive review to identify and prioritize effect biomarkers for human biomonitoring. *Environment International*, 144, 105811.
- Nadal, A., Ropero, A. B., Fuentes, E., Soria, B., & Ripoll, C. (2004). Estrogen and xenoestrogen actions on endocrine pancreas: from ion channel modulation to activation of nuclear function. *Steroids*, 69(8-9), 531-536.
- Nadal, A., Alonso-Magdalena, P., Soriano, S., Ropero, A. B., & Quesada, I. (2009). The role of oestrogens in the adaptation of islets to insulin resistance. *The Journal of physiology*, 587(21), 5031-5037.
- Nadal, A., Alonso-Magdalena, P., Soriano, S., Ripoll, C., Fuentes, E., Quesada, I., & Ropero, A. B. (2011). Role of estrogen receptors alpha, beta and GPER1/GPR30 in pancreatic beta-cells. *Front Biosci*, 16, 251-260.

- Naderi, M., Wong, M. Y., & Gholami, F. (2014). Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquatic toxicology*, 148, 195-203.
- Newsholme, P., Cruzat, V. F., Keane, K. N., Carlessi, R., & de Bittencourt Jr, P. I. H. (2016). Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochemical Journal*, 473(24), 4527-4550.
- Nishikawa, M., Iwano, H., Yanagisawa, R., Koike, N., Inoue, H., & Yokota, H. (2010). Placental transfer of conjugated bisphenol A and subsequent reactivation in the rat fetus. *Environmental health perspectives*, 118(9), 1196-1203.
- Ogawa, W., Matozaki, T., & Kasuga, M. (1998). Role of binding proteins to IRS-1 in insulin signalling. In *Insulin Action* (pp. 13-22). Springer, Boston, MA.
- Okada, A., & Kai, O. (2008). Effects of estradiol-17 $\beta$  and bisphenol A administered chronically to mice throughout pregnancy and lactation on the male pups' reproductive system. *Asian journal of andrology*, 10(2), 271-276.
- Oliveira, K. M., Figueiredo, L. S., Araujo, T. R., Freitas, I. N., Silva, J. N., Boschero, A. C., & Ribeiro, R. A. (2020). Prolonged bisphenol-A exposure decreases endocrine pancreatic proliferation in response to obesogenic diet in ovariectomized mice. *Steroids*, 108658.
- Orci, L. (1982). Macro-and micro-domains in the endocrine pancreas. *Diabetes*, 31(6), 538-565.
- Pan, F. C., & Wright, C. (2011). Pancreas organogenesis: from bud to plexus to gland. *Developmental Dynamics*, 240(3), 530-565.
- Park, C., Song, H., Choi, J., Sim, S., Kojima, H., Park, J., ... & Lee, Y. (2020). The mixture effects of bisphenol derivatives on estrogen receptor and androgen receptor. *Environmental Pollution*, 260, 114036.
- Paterni, I., Granchi, C., Katzenellenbogen, J. A., & Minutolo, F. (2014). Estrogen receptors alpha (ER $\alpha$ ) and beta (ER $\beta$ ): subtype-selective ligands and clinical potential. *Steroids*, 90, 13-29.
- Payne, A. H. (1990). Hormonal regulation of cytochrome P450 enzymes, cholesterol side-chain cleavage and 17 $\alpha$ -hydroxylase/C17-20 lyase in Leydig cells. *Biology of reproduction*, 42(3), 399-404.
- Payne, A. H., & Hales, D. B. (2004). Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones. *Endocrine reviews*, 25(6), 947-970.
- Peretz, J., Vrooman, L., Ricke, W. A., Hunt, P. A., Ehrlich, S., Hauser, R., ... & Flaws, J. A. (2014). Bisphenol A and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007-2013. *Environmental health perspectives*, 122(8), 775-786.
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological reviews*, 98(4), 2133-2223.
- Pojana, G., Gomiero, A., Jonkers, N., & Marcomini, A. (2007). Natural and synthetic endocrine disrupting compounds (EDCs) in water, sediment and biota of a coastal lagoon. *Environment International*, 33(7), 929-936.

- Poloz, Y., & Stambolic, V. (2015). Obesity and cancer, a case for insulin signaling. *Cell death & disease*, 6(12), e2037-e2037.
- Prokop, Z., Hanková, L., & Jeřábek, K. (2004). Bisphenol A synthesis—modeling of industrial reactor and catalyst deactivation. *Reactive and Functional Polymers*, 60, 77-83.
- Prossnitz, E. R., Arterburn, J. B., Smith, H. O., Oprea, T. I., Sklar, L. A., & Hathaway, H. J. (2008). Estrogen signaling through the transmembrane G protein-coupled receptor GPR30. *Annu. Rev. Physiol.*, 70, 165-190.
- Prossnitz, E. R., & Maggiolini, M. (2009). Mechanisms of estrogen signaling and gene expression via GPR30. *Molecular and cellular endocrinology*, 308(1-2), 32-38.
- Punt, A., Aartse, A., Bovee, T. F., Gerssen, A., Van Leeuwen, S. P., Hoogenboom, R. L., & Peijnenburg, A. A. (2019). Quantitative in vitro-to-in vivo extrapolation (QIVIVE) of estrogenic and anti-androgenic potencies of BPA and BADGE analogues. *Archives of toxicology*, 93(7), 1941-1953.
- Qiu, W., Zhan, H., Hu, J., Zhang, T., Xu, H., Wong, M., ... & Zheng, C. (2019). The occurrence, potential toxicity, and toxicity mechanism of bisphenol S, a substitute of bisphenol A: A critical review of recent progress. *Ecotoxicology and environmental safety*, 173, 192-202.
- Rahmani, S., Vakhshiteh, F., Hodjat, M., Sahranavardfard, P., Hassani, S., Ghafour Broujerdi, E., ... & Abdollahi, M. (2020). Gene-Environmental Interplay in Bisphenol A Subchronic Animal Exposure: New Insights into the Epigenetic Regulation of Pancreatic Islets. *Chemical Research in Toxicology*, 33(9), 2338-2350.
- Rains, J. L., & Jain, S. K. (2011). Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 50(5), 567-575.
- Rettberg, J. R., Yao, J., & Brinton, R. D. (2014). Estrogen: a master regulator of bioenergetic systems in the brain and body. *Frontiers in neuroendocrinology*, 35(1), 8-30.
- Riedel, M. J., Asadi, A., Wang, R., Ao, Z., Warnock, G. L., & Kieffer, T. J. (2012). Immunohistochemical characterisation of cells co-producing insulin and glucagon in the developing human pancreas. *Diabetologia*, 55(2), 372-381.
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive toxicology*, 42, 132-155.
- Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y., & Han, W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & molecular medicine*, 48(3), e219-e219.
- Rodriguez-Calvo, T., Richardson, S. J., & Pugliese, A. (2018). Pancreas pathology during the natural history of type 1 diabetes. *Current diabetes reports*, 18(11), 124.
- Roelofs, M. J., van den Berg, M., Bovee, T. F., Piersma, A. H., & van Duursen, M. B. (2015). Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology*, 329, 10-20.
- Ropero, A. B., Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., & Nadal, A. (2008). The role of estrogen receptors in the control of energy and glucose homeostasis. *Steroids*, 73(9-10), 874-879.

- Ross, M. H., & Wojciech, P. (2013). *Histología*.
- Rosenfeld, C. S. (2017). Neuroendocrine disruption in animal models due to exposure to bisphenol A analogues. *Frontiers in neuroendocrinology*, 47, 123-133.
- Rosenmai, A. K., Dybdahl, M., Pedersen, M., Alice van Vugt-Lussenburg, B. M., Wedeby, E. B., Taxvig, C., & Vinggaard, A. M. (2014). Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives?. *Toxicological Sciences*, 139(1), 35-47.
- Ryan, K. K., Haller, A. M., Sorrell, J. E., Woods, S. C., Jandacek, R. J., & Seeley, R. J. (2010). Perinatal exposure to bisphenol-a and the development of metabolic syndrome in CD-1 mice. *Endocrinology*, 151(6), 2603-2612.
- Sakata, N., Yoshimatsu, G., & Kodama, S. (2019). Development and characteristics of pancreatic epsilon cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 1867.
- Salian, S., Doshi, T., & Vanage, G. (2009). Perinatal exposure of rats to Bisphenol A affects the fertility of male offspring. *Life sciences*, 85(21-22), 742-752.
- Saltiel, A. R., & Kahn, C. R. (2001). Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414(6865), 799-806.
- Santamaría, C., Durando, M., de Toro, M. M., Luque, E. H., & Rodriguez, H. A. (2016). Ovarian dysfunctions in adult female rat offspring born to mothers perinatally exposed to low doses of bisphenol A. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 158, 220-230.
- Santos, R. S., Batista, T. M., Camargo, R. L., Morato, P. N., Borck, P. C., Leite, N. C., ... & Carneiro, E. M. (2016). Lacking of estradiol reduces insulin exocytosis from pancreatic  $\beta$ -cells and increases hepatic insulin degradation. *Steroids*, 114, 16-24.
- Sato, T., Miyagawa, S., & Iguchi, T. (2016). Estradiol-17 $\beta$ . In *Handbook of Hormones* (pp. 520-e94G). Academic Press.
- Scinicariello, F., & Buser, M. C. (2016). Serum testosterone concentrations and urinary bisphenol A, benzophenone-3, triclosan, and paraben levels in male and female children and adolescents: NHANES 2011–2012. *Environmental health perspectives*, 124(12), 1898-1904.
- Schmidt, J., Fic, A., Klopčič, I., Trontelj, J., Dolenc, M. S., ... & Mašič, L. P. (2016). Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere*, 157, 152-159
- Sharma, G., Mauvais-Jarvis, F., & Prossnitz, E. R. (2018). Roles of G protein-coupled estrogen receptor GPER in metabolic regulation. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 176, 31-37.
- Siracusa, J. S., Yin, L., Measel, E., Liang, S., & Yu, X. (2018). Effects of bisphenol A and its analogs on reproductive health: A mini review. *Reproductive toxicology*, 79, 96-123.
- Skinner, M. K. (2014). Endocrine disruptor induction of epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Molecular and cellular endocrinology*, 398(1-2), 4-12.
- Skledar, D. G., Schmidt, J., Fic, A., Klopčič, I., Trontelj, J., Dolenc, M. S., ... & Mašič, L. P. (2016). Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere*, 157, 152-159.

- Soriano, S., Ripoll, C., Fuentes, E., Gonzalez, A., Alonso-Magdalena, P., Ropero, A. B., ... & Nadal, A. (2011). Regulation of KATP channel by 17 $\beta$ -estradiol in pancreatic  $\beta$ -cells. *Steroids*, 76(9), 856-860.
- Stolovich-Rain, M., Enk, J., Vikesa, J., Nielsen, F. C., Saada, A., Glaser, B., & Dor, Y. (2015). Weaning triggers a maturation step of pancreatic  $\beta$  cells. *Developmental cell*, 32(5), 535-545.
- Sun, X. J., Wang, L. M., Zhang, Y., Yenush, L., Myers Jr, M. G., Glasheen, E., ... & White, M. F. (1995). Role of IRS-2 in insulin and cytokine signalling. *Nature*, 377(6545), 173-177.
- Szabat, M., Page, M. M., Panzhinskiy, E., Skovsø, S., Mojibian, M., Fernandez-Tajes, J., ... & Taghizadeh, F. (2016). Reduced insulin production relieves endoplasmic reticulum stress and induces  $\beta$  cell proliferation. *Cell metabolism*, 23(1), 179-193.
- Thoene, M., Dzika, E., Gonkowski, S., & Wojtkiewicz, J. (2020). Bisphenol S in food causes hormonal and obesogenic effects comparable to or worse than Bisphenol A: A literature review. *Nutrients*, 12(2), 532.
- Tomita, T. (2016). Apoptosis in pancreatic  $\beta$ -islet cells in Type 2 diabetes. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 16(3), 162.
- Thorens, B. (2014). Neural regulation of pancreatic islet cell mass and function. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 16(S1), 87-95.
- Ullah, H., Jahan, S., Ain, Q. U., Shaheen, G., & Ahsan, N. (2016). Effect of bisphenol S exposure on male reproductive system of rats: A histological and biochemical study. *Chemosphere*, 152, 383-391.
- Upson, K., Sathyanarayana, S., De Roos, A. J., Koch, H. M., Scholes, D., & Holt, V. L. (2014). A population-based case-control study of urinary bisphenol A concentrations and risk of endometriosis. *Human reproduction*, 29(11), 2457-2464.
- Van Esterik, J. C. J., Dollé, M. E. T., Lamoree, M. H., Van Leeuwen, S. P. J., Hamers, T., Legler, J., & Van der Ven, L. T. M. (2014). Programming of metabolic effects in C57BL/6JxFVB mice by exposure to bisphenol A during gestation and lactation. *Toxicology*, 321, 40-52.
- VEGA, D. P. V., & Florentino, B. L. (2000). Toxicología de alimentos. *Centro Nacional de Salud Ambiental: México*.
- Verbanck, M., Canouil, M., Leloire, A., Dhennin, V., Coumoul, X., Yengo, L., ... & Poulain-Godefroy, O. (2017). Low-dose exposure to bisphenols A, F and S of human primary adipocyte impacts coding and non-coding RNA profiles. *PLoS One*, 12(6), e0179583.
- Vom Saal, F. S., & Vandenberg, L. N. (2020). Update on the health effects of bisphenol A: Overwhelming evidence of harm. *Endocrinology*.
- Wan, Y., Huo, W., Xu, S., Zheng, T., Zhang, B., Li, Y., ... & Chen, Z. (2018). Relationship between maternal exposure to bisphenol S and pregnancy duration. *Environmental Pollution*, 238, 717-724.
- Wan, Y., Xia, W., Yang, S., Pan, X., He, Z., & Kannan, K. (2018). Spatial distribution of bisphenol S in surface water and human serum from Yangtze River watershed, China: Implications for exposure through drinking water. *Chemosphere*, 199, 595-602.

- Wei, J., Lin, Y., Li, Y., Ying, C., Chen, J., Song, L., ... & Xu, S. (2011). Perinatal exposure to bisphenol A at reference dose predisposes offspring to metabolic syndrome in adult rats on a high-fat diet. *Endocrinology*, 152(8), 3049-3061.
- Wilcox, G. (2005). Insulin and insulin resistance. *Clinical biochemist reviews*, 26(2), 19.
- Wild, S. H., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & King, H. (2004). Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030: response to Rathman and Giani. *Diabetes care*, 27(10), 2569-2569.
- Wisniewski, P., Romano, R. M., Kizys, M. M., Oliveira, K. C., Kasamatsu, T., Giannocco, G., ... & Romano, M. A. (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.
- World Health Organization. (2018). World Health Organization obesity and overweight fact sheet.
- Wu, L. H., Zhang, X. M., Wang, F., Gao, C. J., Chen, D., Palumbo, J. R., ... & Zeng, E. Y. (2018). Occurrence of bisphenol S in the environment and implications for human exposure: A short review. *Science of the Total Environment*, 615, 87-98.
- Xin, F., Susiarjo, M., & Bartolomei, M. S. (2015). Multigenerational and transgenerational effects of endocrine disrupting chemicals: A role for altered epigenetic regulation?. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 43, pp. 66-75). Academic Press.
- Yamasaki, K., Noda, S., Imatanaka, N., & Yakabe, Y. (2004). Comparative study of the uterotrophic potency of 14 chemicals in a uterotrophic assay and their receptor-binding affinity. *Toxicology letters*, 146(2), 111-120.
- Yang, Y., Guan, J., Yin, J., Shao, B., & Li, H. (2014). Urinary levels of bisphenol analogues in residents living near a manufacturing plant in south China. *Chemosphere*, 112, 481-486.
- Yokoi, N., Gheni, G., Takahashi, H., & Seino, S. (2016).  $\beta$ -Cell glutamate signaling: Its role in incretin-induced insulin secretion. *Journal of diabetes investigation*, 7, 38-43.
- Yuan, X., Li, T., Zhou, L., & Zhao, X. (2014). Characteristics and risk assessment of estrogenic compounds in rivers of southern Jiangsu province, China. *Ieri Procedia*, 9, 176-184.
- Zhang, D. H., Zhou, E. X., & Yang, Z. L. (2017). Waterborne exposure to BPS causes thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae. *PLoS One*, 12(5), e0176927.
- Zhou, C., Wang, W., Peretz, J., & Flaws, J. A. (2015). Bisphenol A exposure inhibits germ cell nest breakdown by reducing apoptosis in cultured neonatal mouse ovaries. *Reproductive Toxicology*, 57, 87-99.
- Zhou, W., Fang, F., Zhu, W., Chen, Z. J., Du, Y., & Zhang, J. (2017). Bisphenol A and ovarian reserve among infertile women with polycystic ovarian syndrome. *International journal of environmental research and public health*, 14(1), 18.
- Zhou, Q., & Melton, D. A. (2018). Pancreas regeneration. *Nature*, 557(7705), 351-358.
- Zhu, L., Martinez, M. N., Emfinger, C. H., Palmisano, B. T., & Stafford, J. M. (2014). Estrogen signaling prevents diet-induced hepatic insulin resistance in male mice with

obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 306(10), E1188-E1197.

- ZIELIŃSKA, M., WOJNOWSKA-BARYŁA, I., & CYDZIK-KWIATKOWSKA, A. (2019). Sources and properties of BPA. In *Bisphenol A Removal from Water and Wastewater* (pp. 3-28). Springer, Cham.
- Zorn, A. M., & Wells, J. M. (2009). Vertebrate endoderm development and organ formation. *Annual Review of Cell and Developmental*, 25, 221-251.