

## PRINCIPALES DISRUPTORES ENDOCRINOS VINCULADOS CON SALUD REPRODUCTIVA FEMENINA: BASES BIOLÓGICAS DE SU ASOCIACIÓN

ANABELLA MARCONETTO<sup>1,2</sup>, ANA BABINI<sup>1,2</sup>, MÓNICA ÑAÑEZ<sup>1</sup>, LAURA MORENO<sup>3</sup>,  
OTILIO ROSATO<sup>1,2</sup>, CAROLINA FUX OTTA<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup>II° Cátedra de Clínica Ginecológica, <sup>2</sup>Instituto Universitario de Medicina Reproductiva,  
<sup>3</sup>Cátedra de Clínica Pediátrica, <sup>4</sup>Departamento de Endocrinología y Diabetes,  
Hospital Universitario de Maternidad y Neonatología, Facultad de Ciencias Médicas,  
Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

**Resumen** Se denominan disruptores endocrinos (DEs) a aquellas sustancias químicas capaces de interferir con la homeostasis hormonal, alterando la síntesis, función, almacenamiento y/o metabolismo de las hormonas. Estas sustancias se encuentran en el ambiente y en una amplia variedad de productos de uso diario, por lo que la exposición humana es permanente. Experimentos con animales han confirmado la capacidad de los DEs para inducir desórdenes reproductivos, por lo que se ha sugerido que podrían ser un factor importante como causa de subfertilidad humana. El bisfenol A, los ftalatos y los compuestos orgánicos persistentes son tres tipos de DEs presentes en el medio ambiente y asociados con alteraciones reproductivas. Consultando las bases de datos MEDLINE y PubMed, en la presente revisión, se reúne bibliografía de los últimos 20 años donde se evalúan los efectos provocados por la exposición a los DEs mencionados en mujeres durante la vida adulta. Se resumen los efectos sobre marcadores de reserva ovárica y los resultados de tratamientos de fertilización *in vitro*. Por otro lado, se evalúa la evidencia a nivel molecular de los efectos provocados por los DEs sobre la fisiología reproductiva en estudios *in vitro* e *in vivo*.

**Palabras clave:** infertilidad, contaminantes ambientales, reserva ovárica, resultados de FIV, bisfenol A, ftalatos

**Abstract** *Main endocrine disruptors related to female reproductive health: biological basis of their association.*

Endocrine disruptors (EDs) are those chemical substances capable of interfering with hormonal homeostasis, altering the synthesis, function, storage and / or metabolism of hormones. These substances are found in the environment and in a wide variety of products for daily use, so human exposure is permanent. Animal experiments have confirmed the capacity of EDs to induce reproductive disorders, which is why it has been suggested that they could be an important factor in causing human subfertility. Bisphenol A, phthalates and persistent organic compounds are three types of EDs present in the environment and associated with reproductive disorders. Consulting the MEDLINE and PubMed databases, in this review, a bibliography of the last 20 years is gathered where the effects caused by exposure to the mentioned EDs in women during adult life are evaluated. The effects on ovarian reserve markers and the results of *in vitro* fertilization treatments are summarized. On the other hand, the evidence at the molecular level of the effects caused by EDs on reproductive physiology is evaluated in *in vitro* and *in vivo* studies.

**Key words:** infertility, environmental contaminants, ovarian reserve, IVF results, bisphenol A, phthalates

**KEY POINTS**

- Los disruptores endócrinos son sustancias químicas capaces de interferir con la homeostasis hormonal. Por su ubicuidad, variedad y características, la exposición humana a ellas es permanente. Existe evidencia sobre la habilidad de estos compuestos para inducir desórdenes reproductivos, siendo considerados un factor importante de subfertilidad.
- La presente revisión resume los efectos provocados por la aparente exposición a disruptores endócrinos sobre ciertos parámetros de salud reproductiva de mujeres adultas. Posteriormente relaciona y discute estos hallazgos con la evidencia a nivel molecular de sus efectos sobre la fisiología reproductiva en estudios *in vitro* y en animales de laboratorio, aportando una integración novedosa y actualizada del tema abordado.

El término “disruptores endócrinos” (DEs) fue introducido por primera vez en el año 1991 por la doctora Theo Colborn en una conferencia organizada por la *World Wildlife Fund*, una organización no gubernamental destinada a la conservación del medioambiente, en Wiscnspread, Wisconsin (EE.UU.). En dicha oportunidad se presentó la evidencia disponible sobre los contaminantes químicos ambientales y su impacto sobre el sistema endocrino en animales salvajes. La conferencia concluyó con la firma de un documento donde se reconocían diferentes áreas de preocupación y productos químicos con afección endocrinológica<sup>1</sup>. Posteriormente, en 1996, el concepto de disruptor endócrino fue definido por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA: Environmental Protection Agency) como toda aquella sustancia exógena, natural o sintética, capaz de interferir con el equilibrio hormonal de un organismo y, en consecuencia, provocar efectos adversos sobre su salud o la de su prole<sup>2</sup>.

**Mecanismo de acción**

Originalmente se pensó que los DEs actuaban únicamente a través de receptores nucleares hormonales, incluyendo el receptor de estrógeno, progesterona y hormonas tiroideas, entre otros. Sin embargo, diferentes avances científicos han determinado su capacidad de actuar sobre receptores hormonales de membrana (receptor de estrógeno), receptores no esteroideos (de neurotransmisores), vías enzimáticas que involucran la biosíntesis y metabolismo de esteroides y otros numerosos mecanismos que repercuten en el sistema endocrino y reproductivo<sup>3</sup>.

Mimetizar o antagonizar la acción de hormonas, alterar el patrón de síntesis y metabolismo, así como modular los niveles de sus receptores son los principales mecanismos moleculares descritos hasta la fecha.

**Estructura química**

Los DEs son sustancias químicamente diversas, lo cual genera dificultad para predecir si una sustancia podría actuar como tal. Sin embargo, en general, se trata de sustancias que presentan en su estructura sustituyentes halogenados e hidrocarburos aromáticos; esta última característica les confiere la capacidad de alterar la acción y/o metabolismo de hormonas esteroideas y una alta liposolubilidad<sup>4</sup>.

**Persistencia y bioacumulación**

La presencia de anillos hidrocarbonados en su estructura química les confiere, a muchos de ellos, una larga vida media. Si bien esta característica es un beneficio para la industria, paralelamente los vuelve altamente persistentes en el ambiente y son capaces de acumularse en los organismos vivos por largos períodos, almacenándose en el tejido adiposo<sup>4</sup>. A los DEs que presentan este comportamiento se los conoce como contaminantes orgánicos persistentes (COPs)<sup>5</sup>. A pesar de que su uso se encuentra prohibido desde hace décadas, siguen presentes en el medioambiente en altos niveles e incluso un estudio realizado en la población de EE.UU. reveló que hasta un 67% de las muestras de sangre contenían COPs<sup>6</sup>.

**Ubicuidad**

Los DEs, están constituidos por un amplio y heterogéneo grupo de sustancias, tanto naturales como sintéticas. Incluyen productos farmacéuticos (dietilestilbestrol), solventes y lubricantes industriales (bifenilos policlorados y polibromados, dioxinas, plásticos (bisfenol A (BPA)), plastificantes (ftalatos), pesticidas (diclorodifenil tricloroetano (DDT)), entre otros<sup>7</sup>.

Las áreas industrializadas producen variados productos químicos que logran alcanzar el suelo y el agua subterránea, siendo esa compleja mezcla capaz de ingresar en la cadena alimenticia<sup>8</sup>. Además, los DEs pueden ser encontrados en diversos productos de uso diario como latas de comida, artículos de plástico, alimentos, juguetes, cosméticos, productos de limpieza, pesticidas, etc.<sup>9</sup>.

La capacidad de encontrarse simultáneamente en diversas fuentes se conoce como fenómeno de ubicuidad y es una de las características más distintivas de los DEs<sup>7</sup>. Esto genera una exposición constante que ocurre por diversas vías, como la ingestión, inhalación e incluso absorción transdérmica<sup>10</sup>.

## Momento de exposición

El nivel de exposición a un DE es de gran importancia, sin embargo, se jerarquiza el momento de la vida en la que se produce. Si la exposición se da en períodos con una elevada diferenciación celular u organogénesis pueden originarse lesiones irreversibles. Así, en los últimos años se ha asociado su exposición con enfermedades del adulto que podrían tener sus orígenes en la vida fetal<sup>3, 11</sup>.

## Efecto cóctel

Los individuos de una población generalmente se encuentran expuestos a más de un disruptor endocrino de forma simultánea, principalmente debido a que están en contacto con diversas fuentes de estas sustancias. Se han descrito efectos aditivos e incluso sinérgicos de los DEs en un mismo organismo, lo cual ha dificultado su estudio y establecimiento de niveles de toxicidad<sup>4</sup>.

## Efectos epigenéticos transgeneracionales

Los DEs tienen la capacidad de influir no solo en el organismo que está sufriendo la exposición, sino también tener efectos sobre las futuras generaciones. Este tipo de alteraciones serían transmitidas a través de factores que regulan la expresión genética del individuo o epigenoma. Cuando el individuo expuesto sufre este tipo de modificaciones a nivel de las células somáticas, el impacto de esos cambios se verá reflejado en el propio organismo. Sin embargo, cuando los cambios ocurren a nivel de sus células germinales, esas epimutaciones pueden dar lugar a un fenotipo trans generacional alterado<sup>12</sup>.

## Dinámica dosis-respuesta

Existen diversas controversias sobre la dinámica dosis-respuesta de los DEs, especialmente porque sus efectos dependen no solo de la dosis, sino también del momento y duración de exposición. Se han descrito efectos más potentes a niveles bajos de exposición que a niveles altos. Por lo tanto, los DEs no cumplirían con las curvas de dosis-respuesta tradicionales, presentando curvas tipo U o U-invertida<sup>12</sup>.

## Efectos en el sistema reproductivo femenino adulto

El funcionamiento y desarrollo del sistema reproductivo femenino depende de complejos y coordinados procesos biológicos. Existen estudios epidemiológicos que sugieren una estrecha relación entre la exposición medioambiental

a DEs y subsecuentes secuelas reproductivas tanto en hombres como en mujeres<sup>11</sup>.

El contacto con DEs durante la edad adulta podría causar efectos tales como anomalías en los ciclos menstruales, disfunción hormonal y anovulación, con la consecuente dificultad para concebir. Diversas publicaciones asocian a los DEs con deterioro del eje gonadal y menopausia a edades más precoces que la población sin exposición<sup>10</sup>.

La comprensión de los mecanismos por los cuales estos compuestos afectan al sistema reproductor femenino en la adultez es importante para entender cómo el medioambiente influye en los desórdenes reproductivos. Se ha detectado la presencia de estas sustancias en diversas matrices biológicas como orina, suero, leche materna, líquido amniótico, saliva y líquido folicular ovárico. Su presencia en este último ha demostrado su contacto directo con las células germinales femeninas durante su proceso de maduración folicular<sup>13-15</sup>.

En la bibliografía se destacan tres grupos de DEs implicados en los efectos sobre el sistema reproductivo femenino: el bisfenol A (BPA), los ftalatos y los COPs<sup>16</sup>.

El BPA [4,4'-dihidroxi-2,2-difenilpropano] es un compuesto químico comúnmente utilizado en la industria. El mismo se utiliza como componente para la fabricación de plásticos dirigidos a la producción de productos de uso diario y recipientes destinados a entrar en contacto con los alimentos y bebidas, así como para dispositivos médicos, entre otros<sup>17, 18</sup>. Puede ingresar al organismo a través de la vía oral, inhalatoria y cutánea<sup>19</sup>. Debido a su presencia en el medio ambiente, la población se encuentra expuesta de manera crónica y en etapas sensibles de la vida. En un relevo realizado en el año 2003 y 2004 por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Estados Unidos (NAHES: *National Health and Nutrition Examination Survey*), el BPA fue detectado en muestras de orina de más del 90 % de los participantes<sup>20</sup>. La mayor parte de la dosis absorbida de BPA se metaboliza rápidamente, siendo eliminada dentro de las 24 horas. Además, ha sido detectado en suero, calostro, líquido folicular ovárico, líquido amniótico, cabello, entre otros<sup>21-25</sup>.

Los ésteres de ácido ftálico (ftalatos) son algunos de los agentes de plastificación más ampliamente utilizados en la industria debido a que les otorga flexibilidad y larga duración a los materiales. Están presentes en una amplia gama de productos industriales, muchos destinados a la construcción y otros incorporados en el hogar como parte de la modernidad. Materiales de la construcción, componentes de automóviles, aceites lubricantes, detergentes, embalajes de alimentos, adhesivos, pinturas, materiales médicos, productos farmacéuticos, textiles, cables eléctricos, artículos de papelería, insumos de perfumería y hasta hace poco tiempo, juguetes, forman parte de la interminable lista de ejemplos del amplio uso

de este compuesto químico. Uno de sus problemas es que al no estar ligado químicamente a la matriz plástica, con el tiempo pueden desprenderse, provocando daños en el medioambiente y en la salud, ingresando al organismo a través de la vía inhalatoria, digestiva y transdérmica<sup>26, 27</sup>.

La potencialidad tóxica de los ftalatos para los humanos fue siempre considerada como baja, hasta el informe del Programa Nacional de Toxicología de Estados Unidos, elaborado en 1982, donde se describió que podrían causar tumores en ratas y ratones, cuando se incluye en la dieta de estos animales<sup>28</sup>. A partir de entonces, y teniendo en cuenta la producción masiva a nivel mundial de estos compuestos, gran cantidad de investigaciones se han realizado en humanos y animales de experimentación.

Los COPs son un grupo heterogéneo de compuestos que fueron ampliamente utilizados en la industria, como pesticidas y solventes, entre otros usos<sup>10</sup>. Son altamente resistentes a la degradación medioambiental, por lo cual son considerados muy tóxicos para la salud. Tienen la capacidad de depositarse en el tejido adiposo y permanecer sin ser metabolizados por largos períodos. Además de bioacumularse y ser liposolubles tienen la particularidad de biomagnificarse, permaneciendo acumulados en la cadena trófica y además ser volátiles, lo cual les permite viajar largas distancias desde su sitio de origen<sup>29</sup>. Así, se han detectado en lugares del planeta donde nunca fueron utilizados, como en la Antártida<sup>30</sup>. La principal vía de exposición es la ingesta de alimentos contaminados, aunque también es posible inhalarlos o que ingresen mediante absorción transdérmica, por contacto con suelos contaminados<sup>4</sup>.

Un grupo de países, motivados por la inquietud de resolver la amenaza para el medioambiente y la salud que generan los COPs, se reunieron en Suecia en el 2001, generando un tratado internacional destinado a eliminar su producción. Este tratado denominado "Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes", entró en vigencia en el año 2004 y hasta la fecha más de 170 países, incluida la Argentina, toman medidas para reducir y eliminar estos productos particularmente peligrosos. Aún, quedan países que no forman parte de este logro internacional y que continúan usando estas sustancias químicas, particularmente como plaguicidas<sup>31, 5</sup>.

Esta revisión reúne la información disponible hasta la fecha sobre los efectos de los DEs mencionados en mujeres durante la vida adulta. Se resumen los efectos sobre marcadores de reserva ovárica y los resultados de tratamientos de fertilización *in vitro* (FIV), relacionando estos hallazgos con la evidencia a nivel molecular en animales de experimentación.

## Métodos

La metodología empleada para la búsqueda bibliográfica fue a través de la base de datos MEDLINE y PubMed, incluyendo artículos publicados en los últimos 10 años y antes de mayo del 2021. Bibliografía adicional fue obtenida de las referencias citadas en los artículos consultados. Se emplearon las siguientes palabras clave para la búsqueda: disruptor endocrino, infertilidad femenina, bisfenol A, ftalatos, contaminantes orgánicos persistentes, modelo animal, reserva ovárica, fertilización *in vitro*. Se seleccionaron artículos tanto en idioma inglés como español. Se analizaron los trabajos en los que se determinaron la presencia de DEs en fluidos biológicos de mujeres y su impacto sobre los marcadores de reserva ovárica y resultados de tratamientos de reproducción asistida (dosaje de hormona antimülleriana (HAM), recuento de folículos antrales (RFA), niveles de estradiol (E2), dosaje de hormona folículo estimulante (FSH), número de ovocitos obtenidos, número de ovocitos maduros obtenidos (estadio de Metafase II o MII), tasa de fertilización (número de cigotos que presentaron 2 pronúcleos y 2 cuerpos polares entre las 17-20 horas post fertilización dividido el total de ovocitos fertilizados), calidad embrionaria, tasa de implantación (número de sacos gestacionales dividido el total de embriones transferidos) y tasa de embarazo clínico (presencia de saco gestacional con latido fetal confirmado por ultrasonido, dividido el total de embriones transferidos).

Debido a los aspectos éticos que implica la experimentación con gametos y embriones humanos, para la confección de esta revisión se ha extraído la información disponible hasta la fecha de estudios realizados en modelos animales *in vivo* e *in vitro* a fin de relacionar los efectos observados en mujeres expuestas a DEs a partir sus bases biológicas.

## Efectos observados sobre reserva ovárica y eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

Desde que se comprobó la capacidad de los DEs para interferir con la fisiología hormonal se los ha estudiado como factores de riesgo de subfertilidad femenina, siendo la reserva ovárica uno de los aspectos más analizados en búsqueda de su correlación con los niveles de DEs. Se sabe que la determinación de los niveles plasmáticos de HAM y el RFA serían los mejores parámetros para la evaluación de la reserva ovárica, complementaria a los niveles de E2 y FSH<sup>32</sup>.

Existen estudios que confirman una relación inversa entre el RFA y la presencia de BPA y COPs<sup>33-35</sup>. Los niveles de BPA en orina se relacionan inversamente con la

concentración E2<sup>35-37</sup>, mientras que las concentraciones séricas de COPs y BPA se han correlacionado con niveles disminuidos de HAM<sup>38, 39</sup>.

### Efectos observados sobre resultados de técnicas de reproducción asistida

En diversos trabajos se ha evaluado la presencia de DEs en pacientes que se someten a técnicas de reproducción asistida analizando su correlación con los diferentes resultados del tratamiento. Así, se observó una menor cantidad de ovocitos obtenidos con el aumento de niveles de BPA, ftalatos y COPs<sup>35, 40-43</sup>. Además, la proporción de ovocitos MII obtenidos resultó afectada negativamente por las concentraciones urinarias de BPA y ftalatos en estos y otros estudios<sup>36, 40, 41, 44</sup>.

Las tasas de fertilización de los ovocitos sometidos a fertilización *in vitro* correlacionan inversamente con los niveles de COPs en líquido folicular y de ftalatos y BPA urinarios<sup>35, 36, 41, 43, 45-47</sup>.

Se detectó que la calidad embrionaria estaba deteriorada y se determinó su relación inversa con los niveles de ftalatos y BPA urinarios y con los COPs en el líquido folicular ovárico<sup>35, 36, 47</sup>. La tasa de implantación embrionaria se relacionó inversamente con los niveles de BPA y COPs, mientras que la tasa de embarazo se ve afectada por la exposición a ftalatos<sup>35, 40, 42-44, 48, 49</sup>.

La información sobre los efectos evidenciados en mujeres expuestas a los DEs citados se encuentra gráficamente resumida en las tablas 1, 2 y 3.

## Bisfenol A

### Reserva ovárica y eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

Diversos trabajos han demostrado que la exposición a bisfenol A (BPA) es capaz de provocar alteraciones sobre la fisiología ovárica, actuando tanto sobre el ovocito como sobre las células foliculares. Dentro de estas últimas, las células de la granulosa son la mayor fuente de producción de estrógenos y tienen un papel crítico en la correcta maduración ovocitaria y la foliculogénesis normal<sup>50</sup>. Se ha determinado que el BPA es capaz de afectar la estructura de las células de la granulosa generando edema, degeneración, fragmentación y picnosis nuclear<sup>51</sup>. Estudios realizados sobre una línea celular de granulosa han demostrado que la exposición a BPA es capaz de inducir la expresión de proteínas pro apoptóticas y de activar la vía de las caspasas, aumentar las especies reactivas del oxígeno, acumular calcio intracelular y disminuir el potencial de membrana mitocondrial, provocando estrés intracelular, autofagia y apoptosis celular<sup>52, 53</sup>. Simultáneamente, frente a la exposición a BPA se observan modificaciones en la expresión génica y afectación de vías moleculares de señalización claves para la producción hormonal (17β-HSD1, CYP450scc, STAR, CYP450arom, etc.) y la correcta fisiología folicular<sup>54</sup>.

En resumen, la presencia de BPA provoca una alteración estructural y funcional de las células foliculares y, en consecuencia, del folículo ovárico. Este conjunto de efectos podría derivar en la disminución en los niveles de

TABLA 1.– Efecto de la exposición a bisfenol A sobre fertilidad femenina

Fuente	Marcadores de reserva ovárica y Eje H-H-G				Resultados de tratamientos de reproducción asistida					
	HAM	RFA	PICO E2	FSH	N° ovos	MII	TF	CE	TIMP	TEC
Souter I, et al, 2013 <sup>33</sup>		↓		–						
Zhou W, et al, 2016 <sup>34</sup>	~	↓		~						
Ehrlich S, et al, 2012a <sup>36</sup>			↓			↓	↓	↓		
MokLin E, et al, 2010 <sup>37</sup>			↓	↓						
Park SY, et al, 2021 <sup>39</sup>	↓									
Shen J, et al, 2020 <sup>42</sup>			–		↓		–	–	↓	↓
Radwan P, et al, 2020 <sup>44</sup>						↓	–	–	↓	–
Fujimoto VY, et al, 2011 <sup>45</sup>						–	↓			
Ehrlich S, et al, 2012b <sup>48</sup>									↓	

(↓): disminución (-): sin cambios (~): tendencia de disminución. HAM: hormona anti-mulleriana. RFA: recuento de folículos antrales. E2: estradiol. FSH: hormona foliculo estimulante. MII: ovocitos maduros en Metafase II. TF: tasa de fertilización normal. CE: calidad embrionaria. TIMP: tasa de implantación. TEC: tasa de embarazo clínico

Hallazgos observados en estudios realizados en humanos sobre la exposición a BPA y su efecto en marcadores de reserva ovárica y resultados de técnicas de reproducción asistida.

TABLA 2.— Efecto de la exposición a ftalatos sobre la fertilidad femenina

Fuente	Marcadores de reserva ovárica y Eje H-H-G				Resultados de tratamientos de reproducción asistida						
	HAM	RFA	PICO E2	FSH	N° ovos	MII	TF	FN	CE	TIMP	TEC
Hauser R, et al, 2016 <sup>40</sup>					↓	↓				↓	
Machtinger, et al, 2018 <sup>41</sup>					↓	↓	↓			—	—
Deng T, et al, 2020 <sup>47</sup>							↓		↓		—

(↓): disminución (-): sin cambios. HAM: hormona anti-mülleriana. RFA: recuento de folículos antrales. E2: estradiol. FSH: hormona folículo estimulante. MII: ovocitos maduros en Metafase II. TF: tasa de fertilización normal. CE: calidad embrionaria. TIMP: tasa de implantación. TEC: tasa de embarazo clínico

Hallazgos observados en estudios realizados en humanos sobre la exposición a ftalatos y su efecto en marcadores de reserva ovárica y resultados de técnicas de reproducción asistida

TABLA 3.— Efecto de la exposición a contaminantes orgánicos persistentes sobre la fertilidad femenina

Fuente	Marcadores de reserva ovárica y Eje H-H-G				Resultados de tratamientos de reproducción asistida						
	HAM	RFA	PICO E2	FSH	N° ovos	MII	TF	FN	CE	TIMP	TEC
Petro EM, et al, 2012 <sup>46</sup>			—		—		↓				
Meeker JD, et al, 2011 <sup>49</sup>										↓	—
Al-Hussainia TK, et al, 2018 <sup>43</sup>					↓		↓			↓	
Bloom MS, et al, 2017 <sup>35</sup>		↓	↓		↓		↓		↓	↓	
Pan W, et al, 2019 <sup>38</sup>	↓										

(↓): disminución (-): sin cambios. HAM: hormona anti-mülleriana. RFA: recuento de folículos antrales. E2: estradiol. FSH: hormona folículo estimulante. MII: ovocitos maduros en Metafase II. TF: tasa de fertilización normal. CE: calidad embrionaria. TIMP: tasa de implantación. TEC: tasa de embarazo clínico

Hallazgos observados en estudios realizados en humanos sobre la exposición a COPs y su efecto en marcadores de reserva ovárica y resultados de técnicas de reproducción asistida

estrógenos, atresia folicular y finalmente, reducción de la reserva ovárica en las mujeres expuestas<sup>33, 34, 39</sup>.

### Resultados de técnicas de reproducción asistida

Las células de la granulosa folicular presentan un contacto estrecho con el ovocito y se ha determinado la presencia de uniones intercelulares tipo *gap junction*, evidenciando un intercambio directo de metabolitos, iones y segundos mensajeros que juegan un rol importante en la maduración ovocitaria, foliculogénesis, atresia y ovulación<sup>55</sup>. Lin y col. han demostrado la capacidad del BPA de disminuir la expresión de la proteína Conexina43, principal componente del *gap junction* entre el ovocito y las células de la granulosa, impidiendo que el intercambio previamente mencionado se lleve a cabo correctamente, afectando a la adecuada fisiología ovocitaria<sup>56</sup>.

La foliculogénesis se encuentra principalmente regulada por factores de crecimiento, el factor de diferenciación de crecimiento 9 (GDF9) y la proteína morfogenética 15 (BMP-15)<sup>55</sup>. Se ha demostrado que la exposición *in vitro* de folículos antrales de rata a BPA es capaz de disminuir la expresión de ambos factores en el ovocito, resultando en un retraso del desarrollo folicular<sup>57</sup>.

Los ovocitos en estadio de maduración metafase II normales presentan la estructura correspondiente al huso meiótico. Wang y col. estudiaron los ovocitos de rata expuestos a diferentes concentraciones de BPA y observaron microtúbulos dispersos en el citoplasma con ausencia de la estructura organizada del huso meiótico y cromosomas distribuidos de manera desordenada. Además, al estudiar la expresión de las proteínas Erk1 y CAMKII fosforiladas, claves para la transformación de la placa ecuatorial durante la división meiótica, encontra-

ron una disminución en los ovocitos expuestos a BPA<sup>57</sup>. Briño-Enriquez y col. también han demostrado que la exposición *in vitro* de ovocitos humanos a BPA altera el proceso meiótico aumentando la actividad de MLH1, proteína clave en los procesos de recombinación meiótica, apareamiento y sinapsis<sup>58</sup>. Por otro lado, un estudio reciente, demostró la capacidad del BPA de alterar la función y estructura de las mitocondrias, el retículo endoplásmico y los lisosomas en el ovocito de ratón<sup>59</sup>.

Los estudios mencionados indican una severa interferencia del BPA sobre la estructura y función tanto del ovocito como de las células de la granulosa. Estos hallazgos podrían explicar el menor número de ovocitos obtenidos, la menor proporción de aquellos en estadio de MII y las alteraciones en la fertilización observadas en pacientes sometidas a técnicas de reproducción asistida<sup>36, 39, 42, 44, 45</sup>. En ellas también se evidencia una menor calidad embrionaria, posiblemente relacionada con la alteración global de la foliologénesis, en el proceso de maduración citoplasmática y nuclear, dando lugar a una incompetencia ovocitaria para sustentar un desarrollo embrionario correcto<sup>36</sup>.

El canal epitelial de sodio (EnaC) interviene activamente en el proceso de decidualización e implantación embrionaria. La regulación de su actividad depende, en cierta medida, de la acción de la enzima SGK1, la cual a su vez depende de la acción del Receptor de Estrógenos (RE)<sup>60,61</sup>. Yuan y col. en un trabajo que incluyó tanto un modelo animal como estudios *in vitro*, observaron que el BPA es capaz de interferir con la vía de señalización RE/SGK1/ENaC afectando la decidualización uterina y derivando en fallas de implantación<sup>62</sup>. Estudios realizados en embriones ovinos relacionan la exposición a BPA con una inhibición en la migración de células del trofoectodermo. Por otro lado, se demostró que en presencia de BPA se produce una disminución en la actividad de CXCL8, factor quimiotáctico producido por las células del estroma decidual, considerado clave para la regulación de la invasión trofoblástica<sup>63, 64</sup>.

Borman ED y col. ponen de manifiesto el "efecto cóctel" de los DEs al demostrar la exposición conjunta a BPA y ftalatos en ratas es capaz de disminuir la expresión de la caderina epitelial uterina (e-caderina) y la integrina  $\alpha\beta3$ , proteínas que participan del proceso de adhesión del blastocisto al epitelio uterino<sup>65</sup>.

La implantación y el consecuente embarazo son procesos hormono-dependientes que involucran la acción sincronizada de un embrión pre-implantatorio y un útero receptivo<sup>66</sup>. La participación de diversos mecanismos, señales y eventos en los que intervienen proteínas, factores de transcripción, segundos mensajeros, entre otros, puede verse alterada por la exposición a BPA, pudiendo ser una razón de la disminución en las tasas de implantación y embarazo observada en las mujeres expuestas<sup>42, 44, 48</sup>.

## Ftalatos

### Reserva ovárica y eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

La foliologénesis depende de la proliferación de las células que componen al folículo ovárico, la cual se encuentra sujeta a la acción de factores de regulación específicos del ciclo celular. Cualquier alteración en la acción de los mismos puede derivar en arresto del ciclo celular, apoptosis e inhibición del crecimiento folicular. Se ha demostrado que los ftalatos son capaces de alterar la expresión de genes relacionados con el ciclo (Ccnd2, Ccne1 y Cdk4) y la supervivencia celular, aumentando la producción de factores pro-apoptóticos (Bax) e inhibiendo factores anti-apoptóticos (Bcl2)<sup>67, 68</sup>.

El estrés oxidativo es uno de los factores de riesgo capaces de alterar la proliferación celular e inducir apoptosis. Wang y col. demostraron la capacidad de los ftalatos de inducir estrés oxidativo inhibiendo enzimas antioxidantes, como es la glutatión peroxidasa, y provocar la acumulación de especies reactivas del oxígeno en los folículos antrales. Esto provocaría una inhibición y bloqueo de su crecimiento<sup>67</sup>.

Estos hallazgos sobre los efectos provocados por los ftalatos sobre el folículo ovárico en experimentos con animales evidencian su capacidad potencial de afectar la reserva ovárica. Sin embargo, en estudios realizados en humanos no ha sido hallada, al menos por el momento, una correlación entre la exposición a estos compuestos y alteraciones en parámetros de reserva ovárica.

### Resultados de técnicas de reproducción asistida

Dos recientes trabajos, de Li y col. y de Lu y col. han demostrado la variedad y gravedad de los efectos causados por los ftalatos sobre los ovocitos murinos en experimentos tanto *in vivo* como *in vitro*<sup>69, 70</sup>.

Generalmente, se considera que la maduración ovocitaria está completa cuando ocurre la desaparición de la vesícula germinal y la aparición del primer corpúsculo polar. Normalmente, los ovocitos se encontrarán en estadio de vesícula germinal hasta ser estimulados por el pico de LH que desencadena su avance en la maduración. Posteriormente, luego de la extrusión del primer corpúsculo polar, el ovocito hará otra pausa en este estadio de MII hasta su fertilización<sup>71</sup>. Li y col. observaron que frente a la exposición *in vivo* e *in vitro* a ftalatos, se encuentra una mayor cantidad de ovocitos arrestados en estadio de vesícula germinal<sup>69</sup>.

La función e integridad del citoesqueleto es crítica para la citocinesis, ensamblaje del huso meiótico y formación de los pronúcleos, entre otros eventos. La correcta función del citoesqueleto no solo asegura la competencia ovocitaria sino también regular su maduración, fertili-

zación y desarrollo embrionario<sup>72</sup>. Se ha demostrado la capacidad de los ftalatos para alterar la localización de la *gama-tubulina*, proteína clave en el ensamble de huso meiótico, afectando su morfología, organización y correcto alineamiento de los cromosomas. Además, observaron inhibición en la migración de los gránulos corticales debido a una alterada función de los filamentos de actina<sup>69,70</sup>.

También se ha registrado que aquellos ovocitos expuestos a ftalatos presentan un aumento de ROS, daños en el ADN, daño mitocondrial, menor contenido de ATP y niveles alterados de metilación de ADN<sup>70</sup>.

En resumen, estos hallazgos demuestran que los ftalatos inhiben y alteran la meiosis ovocitaria y provocan daños a nivel ultra estructural, capaces de afectar la fisiología ovocitaria normal. Esto podría explicar la menor tasa de ovocitos maduros, fertilización normal y la consecuente mala calidad embrionaria en las pacientes expuestas<sup>40, 41, 47</sup>.

Diversos modelos *in vivo* e *in vitro* han demostrado la variada influencia que provoca la exposición a ftalatos sobre los complejos procesos que implica el desarrollo de un embarazo. Se han demostrado alteraciones en la expresión de genes y factores relacionados con el desarrollo del trofoblasto, implantación (por ejemplo, FOSB, EGR1, WNT7A, HAND1, INHBA), angiogénesis (VEGF, PGF, IGF1 y IGF2) e inmunomodulación (por ejemplo, CEACAM6, y genes involucrados en regulación de la acción de interferones)<sup>73,74</sup>. Otros autores han observado la capacidad de los ftalatos para alterar la invasión del trofoblasto generando desbalances en la expresión de MMP-9/TIMP-1 (metaloproteinasas e inhibidores de la acción de las mismas)<sup>75</sup>. A nivel génico también se ha relacionado a los ftalatos con la inducción de apoptosis en la placenta mediante la activación de las caspasas 3 y 8 y una mayor expresión de ARNm de Bax, disminución de niveles de ARNm de Bcl-2 y de la proteína GD13, lo cual se traduciría en placentas de menor peso y con alteraciones en la vascularización<sup>76,77</sup>.

Si bien en la bibliografía consultada no se evidencian efectos negativos en el proceso de implantación en humanos, teniendo en cuenta estos hallazgos se podría esperar que los haya. Por otro lado, lo revisado nos permite explicar la relación de la disminución en las tasas embarazo en las mujeres con exposición a ftalatos<sup>40</sup>.

## Compuestos orgánicos persistentes

### Reserva ovárica y eje hipotálamo-hipófisis-gonadal

La HAM es expresada por las células foliculares y disminuye con la desaparición de las células germinales. Niveles bajos de HAM son característicos de folículos en proceso de atresia indicando crecimiento y maduración alterados de los mismos<sup>78</sup>.

Estudios *in vivo* e *in vitro* con animales de laboratorio demuestran la capacidad de los COPs para provocar la apoptosis y necrosis ovocitaria, dado por el aumento en la producción de ROS y la señalización positiva con Anexina-V en el tejido ovocitario<sup>79,80</sup>. Se ha determinado, la alteración en las uniones tipo *gap junctions* presentes entre el ovocito y las células de la granulosa, las cuales resultan fundamentales para mantener la viabilidad y correcta maduración de la gameta<sup>79</sup>.

Los COPs son capaces de alterar la foliculogénesis, relacionándose estos hallazgos con la disminución de valores de E2, HAM y RFA en aquellas pacientes expuestas<sup>35,59</sup>.

### Resultados de técnicas de reproducción asistida

El trabajo realizado por Sun y col. demostró que la exposición a ciertos COPs es capaz de alterar la distribución de los filamentos de actina en ovocitos y provocar disfunción mitocondrial debido a una alteración en la distribución y el potencial de membrana mitocondrial<sup>80</sup>.

Estos efectos, sumados a la alteración en la viabilidad de las células del cúmulo y su relación con la gameta, podrían explicar la disminución en los resultados en cuanto a la cantidad de ovocitos y tasa de fertilización normal que se encuentra en pacientes sometidas a técnicas de FIV con exposición a COPs<sup>35, 43, 46</sup>.

Existe escasa evidencia sobre el mecanismo por el cual la exposición a COPs podría provocar una alteración en la calidad embrionaria y la implantación. Campagna y col. utilizando un modelo *in vitro* bovino, observaron una menor vascularización y menor número de células por blastocisto frente a la exposición con COPs<sup>81</sup>. Por otro lado, estudios genómicos en un modelo animal *in vitro* de células trofoblásticas demostró la potencialidad de los COPs para inhibir la señalización de FOS (regulador de la función trofoblástica) y alterar los mecanismos necesarios para la inmunomodulación implantatoria<sup>73</sup>.

Estos hallazgos podrían explicar los resultados en mujeres expuestas a COPs que presentan una menor calidad embrionaria y tasas de implantación disminuidas durante sus tratamientos de FIV<sup>35, 43, 49</sup>.

Los DEs, compuestos químicos capaces de alterar el normal funcionamiento del sistema endocrino del ser humano y su progenie, están presentes en el aire, los alimentos, el agua y diversos productos de uso diario en la vida moderna.

El funcionamiento y desarrollo del sistema reproductivo femenino depende de eventos biológicos complejos y coordinados, siendo la integridad del sistema endocrino uno sus pilares esenciales. Al estar presentes en el medio ambiente, es dable pensar que los DEs podrían afectar el sistema endocrino reproductivo femenino.

La presente revisión resume la información disponible hasta la fecha sobre la exposición a DEs en mujeres de

edad fértil y parámetros reproductivos, medidos sobre sus características de reserva ovárica, así como los resultados de tratamientos de reproducción asistida. Los mismos se relacionan con observaciones de modelos *in vivo* e *in vitro* en animales de experimentación y líneas celulares.

Existe creciente evidencia de la afección reproductiva que ocasiona la contaminación de los DEs en la vida silvestre, así como en animales y modelos celulares de experimentación. Los artículos revisados sobre la exposición y efectos en humanos, animales y células fueron seleccionados en búsqueda de una relación causal entre lo observado en ellos. Sin embargo, es posible encontrar bibliografía adicional que presenta resultados o tendencias nulas o contrarias. Resulta importante fomentar el diseño de estudios epidemiológicos, en paralelo al desarrollo tecnológico que permita precisar los niveles y mecanismos de toxicidad de estos compuestos.

**Conflicto de intereses:** Ninguno para declarar

## Bibliografía

- Colborn T, Clement C. Wingspread Consensus Statement. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: the wildlife/human connection. *Princeton Scientific Pub Co* 1992; 1-8.
- Kavlock RJ, Daston GP, DeRosa C, et al. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. EPA-sponsored workshop. *Environ Health Perspect* 1996; 104 Suppl 4: 715-40.
- Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, et al. EDC-2: the endocrine society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. *Endocr Rev* 2015; 36: E1-E150.
- Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an endocrine society scientific statement. *Endocr Rev* 2009; 30: 293-342.
- Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. En: <http://www.pops.int/TheConvention/Overview/tab-id/3351/Default.aspx>; consultado julio 2021.
- Pumarega J, Gasull M, Lee DH, López T, Porta M. Number of persistent organic pollutants detected at high concentrations in blood samples of the United States Population. *PLoS One* 2016; 11: e0160432.
- Carpenter DO. Effects of persistent and bioactive organic pollutants on human health. *Wiley* 2013: 1-608.
- Careghini A, Mastorgio AF, Saponaro S, Sezenna E. Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environ Sci Pollut Res Int* 2015; 22: 5711-41.
- Yilmaz B, Terekci H, Sandal S, Kelestimur F. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev Endocr Metab Disord* 2020; 21: 127-47.
- Karwacka A, Zamkowska D, Radwan M, Jurewicz J. Exposure to modern, widespread environmental endocrine disrupting chemicals and their effect on the reproductive potential of women: an overview of current epidemiological evidence. *Hum Fertil (Camb)* 2019; 22: 2-25.
- Sifakis S, Androusoyopoulos VP, Tsatsakis AM, Spandidos DA. Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems. *Environ Toxicol Pharmacol* 2017; 51: 56-70.
- Ho SM, Cheong A, Adgent MA, et al. Environmental factors, epigenetics, and developmental origin of reproductive disorders. *Reprod Toxicol* 2017; 68: 85-104.
- Katsikantami I, Sifakis S, Tzatzarakis MN, et al. A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. *Environ Int* 2016; 97: 212-36.
- Kim HK, Ko DH, Lee W, et al. Body fluid concentrations of bisphenol A and their association with in vitro fertilization outcomes. *Hum Fertil (Camb)* 2021; 24: 199-207.
- Jirsová S, Masata J, Jech L, Zvárová J. Effect of polychlorinated biphenyls (PCBs) and 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)-ethane (DDT) in follicular fluid on the results of in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET) programs. *Fertil Steril* 2010; 93: 1831-6
- Amir S, Shah STA, Mamoulakis C, et al. Endocrine disruptors acting on estrogen and androgen pathways cause reproductive disorders through multiple mechanisms: a review. *Int J Environ Res Public Health* 2021; 18: 1464.
- Konieczna A, Rutkowska A, Rachon D. Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA). *Rocz Panstw Zakl Hig* 2015; 66: 5-11.
- Bisphenol A (BPA)-current state of knowledge and future actions by WHO and FAO, in International Food Safety Authorities Network (INFOSAN) Information Note No. 5/2009 – En: [https://www.who.int/foodsafety/publications/fs\\_management/No\\_05\\_Bisphenol\\_A\\_Nov09\\_en.pdf](https://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/No_05_Bisphenol_A_Nov09_en.pdf); consultado julio 2021.
- Geens T, Aerts D, Berthot C, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol* 2012; 50: 3725-40.
- NHANES 2003-2004 Laboratory Data. En: <https://wwwn.cdc.gov/nchs/nhanes/search/datapage.aspx?Component=Laboratory&CycleBeginYear=2003>; consultado julio 2021.
- Mendonca K, Hauser R, Calafat AM, Arbuckle TE, Duty SM. Bisphenol A concentrations in maternal breast milk and infant urine. *Int Arch Occup Environ Health* 2014; 87: 13-20.
- Calafat AM, Kuklennyik Z, Reidy JA, Caudill SP, Ekong J, Needham LL. Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environ Health Perspect* 2005; 113: 391-5
- Martin J, Santos JL, Aparicio I, Alonso E. Analytical method for biomonitoring of endocrine-disrupting compounds (bisphenol A, parabens, perfluoroalkyl compounds and a brominated flame retardant) in human hair by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta* 2016; 945: 95-101.
- Pinney SE, Mesaros CA, Snyder NW, et al. Second trimester amniotic fluid bisphenol A concentration is associated with decreased birth weight in term infants. *Reprod Toxicol* 2017; 67: 1-9.
- Poormoosavi SM, Behmanesh MA, Janati S, Najafzadeh-varzi H. Level of bisphenol A in follicular fluid and serum and oocyte morphology in patients undergoing IVF treatment. *J Family Reprod Health* 2019; 13: 154-9.
- Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health* 2007; 210: 623-34.
- Green Facts. Ftalatos. En: <https://www.greenfacts.org/es/glosario/def/ftalatos.htm>; consultado julio 2021.
- National Toxicology Program. Carcinogenesis bioassay of di (2-ethylhexyl) phthalate (CAS No. 117-81-7) in F344 Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser* 1982; 217: 1-127.
- UN. Stockholm Convention on Persistent Organic Pol-

- lutants. En: <http://chm.pops.int/theconvention/thepops/tabid/673/default.aspx>; consultado julio 2021.
30. Hung H, Katsoyiannis AA, Brorström-Lundén E, et al. Temporal trends of persistent organic pollutants (POPs) in arctic air: 20 years of monitoring under the arctic monitoring and assessment programme (AMAP). *Environ Pollut* 2016; 217: 52-61.
  31. World Health Organization. The use of DDT in malaria vector control. WHO position statement. En: WHO/HTM/GMP/2011; 2011; 1-9.
  32. Nelson SM. Biomarkers of ovarian response: current and future applications. *Fertil Steril* 2013; 99: 963-9.
  33. Souter I, Smith KW, Dimitriadis I, et al. The association of bisphenol-A urinary concentrations with antral follicle counts and other measures of ovarian reserve in women undergoing infertility treatments. *Reprod Toxicol* 2013; 42: 224-31.
  34. Zhou W, Fang F, Zhu W, Chen ZJ, Du Y, Zhang J. Bisphenol A and ovarian reserve among infertile women with polycystic ovarian syndrome. *Int J Environ Res Public Health* 2016; 14: 18.
  35. Bloom MS, Fujimoto VY, Storm R, et al. Persistent organic pollutants (POPs) in human follicular fluid and in vitro fertilization outcomes, a pilot study. *Reprod Toxicol* 2017; 67: 165-73.
  36. Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, et al. Urinary bisphenol A concentrations and early reproductive health outcomes among women undergoing IVF. *Hum Reprod* 2012; 27: 3583-92.
  37. Mok-Lin E, Ehrlich S, Williams PL, et al. Urinary bisphenol A concentrations and ovarian response among women undergoing IVF. *Int J Androl* 2010; 33: 385-93.
  38. Pan W, Ye X, Yin S, et al. Selected persistent organic pollutants associated with the risk of primary ovarian insufficiency in women. *Environ Int* 2019; 129: 51-8.
  39. Park SY, Jeon JH, Jeong K, et al. The association of ovarian reserve with exposure to bisphenol A and phthalate in reproductive-aged women. *J Korean Med Sci* 2021; 36: e1.
  40. Hauser R, Gaskins AJ, Souter I, et al. Urinary phthalate metabolite concentrations and reproductive outcomes among women undergoing in vitro fertilization: results from the EARTH study. *Environ Health Perspect* 2016; 124: 831-9.
  41. Machtinger R, Gaskins AJ, Racowsky C, et al. Urinary concentrations of biomarkers of phthalates and phthalate alternatives and IVF outcomes. *Environ Int* 2018; 111: 23-31.
  42. Shen J, Kang Q, Mao Y, et al. Urinary bisphenol A concentration is correlated with poorer oocyte retrieval and embryo implantation outcomes in patients with tubal factor infertility undergoing in vitro fertilisation. *Ecotoxicol Environ Saf* 2020; 187: 109816.
  43. Al-Hussaini TK, Abdelaleem AA, Elnashar I, et al. The effect of follicular fluid pesticides and polychlorinated biphenyls concentrations on intracytoplasmic sperm injection (ICSI) embryological and clinical outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2018; 220: 39-43.
  44. Radwan P, Wielgomas B, Radwan M, et al. Urinary bisphenol A concentrations and in vitro fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Reprod Toxicol* 2020; 96: 216-20.
  45. Fujimoto VY, Kim D, vom Saal FS, Lamb JD, Taylor JA, Bloom MS. Serum unconjugated bisphenol A concentration in women may adversely influence oocyte quality during in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2011; 95: 1816-9.
  46. Petro EM, Leroy JL, Covaci A, et al. Endocrine-disrupting chemicals in human follicular fluid impair in vitro oocyte developmental competence. *Hum Reprod* 2012; 27: 1025-33.
  47. Deng T, Du Y, Wang Y, et al. The associations of urinary phthalate metabolites with the intermediate and pregnancy outcomes of women receiving IVF/ICSI treatments: a prospective single-center study. *Ecotoxicol Environ Saf* 2020; 188: 109884.
  48. Ehrlich S, Williams PL, Missmer SA, et al. Urinary bisphenol A concentrations and implantation failure among women undergoing in vitro fertilization. *Environ Health Perspect* 2012; 120: 978-83.
  49. Meeker JD, Maity A, Missmer SA, et al. Serum concentrations of polychlorinated biphenyls in relation to in vitro fertilization outcomes. *Environ Health Perspect* 2011; 119: 1010-6.
  50. Thomas FH, Vanderhyden BC. Oocyte-granulosa cell interactions during mouse follicular development: regulation of kit ligand expression and its role in oocyte growth. *Reprod Biol Endocrinol* 2006; 4: 19.
  51. Cao Y, Qu X, Ming Z, Yao Y, Zhang Y. The correlation between exposure to BPA and the decrease of the ovarian reserve. *Int J Clin Exp Pathol* 2018; 11: 3375-82.
  52. Huang M, Huang M, Li X, et al. Bisphenol A induces apoptosis through GPER-dependent activation of the ROS/Ca<sup>2+</sup>-ASK1-JNK pathway in human granulosa cell line KGN. *Ecotoxicol Environ Saf* 2021; 208: 111429.
  53. Lin M, Hua R, Ma J, et al. Bisphenol A promotes autophagy in ovarian granulosa cells by inducing AMPK/mTOR/ULK1 signalling pathway. *Environ Int* 2021; 147: 106298.
  54. Shi J, Liu C, Chen M, et al. The interference effects of bisphenol A on the synthesis of steroid hormones in human ovarian granulosa cells. *Environ Toxicol* 2021; 36: 665-74.
  55. Alam MH, Miyano T. Interaction between growing oocytes and granulosa cells in vitro. *Reprod Med Biol* 2019; 19: 13-23.
  56. Lin TC, Wang KH, Chuang KH, Kao AP, Kuo TC. Down-regulation of gap junctional intercellular communication and connexin 43 expression by bisphenol A in human granulosa cells. *Biotechnol Appl Biochem* 2020; 68: 676-82.
  57. Wang X, Jiang SW, Wang L, et al. Interfering effects of bisphenol A on in vitro growth of preantral follicles and maturation of oocytes. *Clin Chim Acta* 2018; 485: 119-25.
  58. Briño-Enríquez MA, Robles P, Camats-Tarruella N, et al. Human meiotic progression and recombination are affected by bisphenol A exposure during in vitro human oocyte development. *Hum Reprod* 2011; 26: 2807-18.
  59. Pan MH, Wu YK, Liao BY, et al. Bisphenol A exposure disrupts organelle distribution and functions during mouse oocyte maturation. *Front Cell Dev Biol* 2021; 9: 661155.
  60. Ruan YC, Guo JH, Liu X, et al. Activation of the epithelial Na<sup>+</sup> channel triggers prostaglandin E<sub>2</sub> release and production required for embryo implantation. *Nat Med* 2012; 18: 1112-7.
  61. Monsivais D, Dyson MT, Yin P, et al. Estrogen receptor  $\beta$  regulates endometrial cell survival through serum and glucocorticoid-regulated kinase activation. *Fertil Steril* 2016; 105: 1266-73.
  62. Yuan M, Hu M, Lou Y, et al. Environmentally relevant levels of bisphenol A affect uterine decidualization and embryo implantation through the estrogen receptor/serum and glucocorticoid-regulated kinase 1/epithelial sodium ion channel  $\beta$ -subunit pathway in a mouse model. *Fertil Steril* 2018; 109: 735-44.
  63. Elmetwally MA, Halawa AA, Lenis YY, Tang W, Wu G, Bazer FW. Effects of BPA on expression of apoptotic genes and migration of ovine trophectoderm (oTr1) cells

- during the peri-implantation period of pregnancy. *Reprod Toxicol* 2019; 83: 73-9.
64. Li X, Wang Y, Wei P, et al. Bisphenol A affects trophoblast invasion by inhibiting CXCL8 expression in decidual stromal cells. *Mol Cell Endocrinol* 2018; 470:38-47.
  65. Borman ED, Foster WG, deCatanzaro D. Concurrent administration of diethylhexylphthalate reduces the threshold dose at which bisphenol A disrupts blastocyst implantation and cadherins in mice. *Environ Toxicol Pharmacol* 2017; 49: 105-11
  66. Wang H, Dey SK. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models. *Nat Rev Genet* 2006; 7: 185-99.
  67. Wang W, Craig ZR, Basavarajappa MS, Hafner KS, Flaws JA. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate induces oxidative stress and inhibits growth of mouse ovarian antral follicles. *Biol Reprod* 2012; 87: 152.
  68. Meling DD, Warner GR, Szumski JR, et al. The effects of a phthalate metabolite mixture on antral follicle growth and sex steroid synthesis in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 2020; 388: 114875.
  69. Li FP, Zhou JL, Guo AW, et al. Di(n-butyl) phthalate exposure impairs meiotic competence and development of mouse oocyte. *Environ Pollut* 2019; 246: 597-607.
  70. Lu Z, Zhang C, Han C, et al. Plasticizer bis(2-ethylhexyl) phthalate causes meiosis defects and decreases fertilization ability of mouse oocytes in vivo. *J Agric Food Chem* 2019; 67: 3459-68.
  71. El Yakoubi W, Wassmann K. Meiotic divisions: no place for gender equality. *Adv Exp Med Biol* 2017; 1002:1-17.
  72. Eichenlaub-Ritter U, Shen Y, Tinneberg HR. Manipulation of the oocyte: possible damage to the spindle apparatus. *Reprod Biomed Online* 2002; 5: 117-24.
  73. Midic U, Goheen B, Vincent KA, VandeVoort CA, Latham KE. Changes in gene expression following long-term in vitro exposure of *Macaca mulatta* trophoblast stem cells to biologically relevant levels of endocrine disruptors. *Reprod Toxicol* 2018; 77: 154-65.
  74. Yu Z, Han Y, Shen R, et al. Gestational di-(2-ethylhexyl) phthalate exposure causes fetal intrauterine growth restriction through disturbing placental thyroid hormone receptor signaling. *Toxicol Lett* 2018; 294: 1-10.
  75. Gao F, Hu W, Li Y, Shen H, Hu J. Mono-2-ethylhexyl phthalate inhibits human extravillous trophoblast invasion via the PPAR $\alpha$  pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2017; 327: 23-9.
  76. Zong T, Lai L, Hu J, et al. Maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate disrupts placental growth and development in pregnant mice. *J Hazard Mater* 2015; 297: 25-33.
  77. Shen R, Zhao LL, Yu Z, et al. Maternal di-(2-ethylhexyl) phthalate exposure during pregnancy causes fetal growth restriction in a stage-specific but gender-independent manner. *Reprod Toxicol* 2017; 67: 117-24.
  78. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, et al. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update* 2014; 20: 370-85.
  79. López-Arellano P, López-Arellano K, Luna J, et al. Perfluorooctanoic acid disrupts gap junction intercellular communication and induces reactive oxygen species formation and apoptosis in mouse ovaries. *Environ Toxicol* 2019; 34: 92-8.
  80. Sun MH, Li XH, Xu Y, Xu Y, Sun SC. Exposure to PBDE47 affects mouse oocyte quality via mitochondria dysfunction-induced oxidative stress and apoptosis. *Ecotoxicol Environ Saf* 2020; 198: 110662.
  81. Campagna C, Sirard MA, Ayotte P, Bailey JL. Impaired maturation, fertilization, and embryonic development of porcine oocytes following exposure to an environmentally relevant organochlorine mixture. *Biol Reprod* 2001; 65: 554-60.