

TRABAJO DE FIN DE GRADO



UNIVERSITAS
Miguel Hernández

¿QUÉ EFECTOS TIENEN LOS DISRUPTORES ENDOCRINOS COMO CONTAMINANTES AMBIENTALES SOBRE EL SISTEMA INMUNE DE LOS PECES?

AUTOR: Vidal Pérez, Jose Antonio

TITULACIÓN: Ciencias ambientales

FACULTAD: Ciencias experimentales

TUTOR: Dra. María del Mar Ortega-Villaizán Romo

COTUTOR: Dr. Javier Esteban Mozo

ÁREA: Bioquímica y Biología Molecular

CURSO ACADÉMICO: 2022 – 2023

Código COIR: TFG.GCA.MDMOR.JAVP.230727



CIENCIAS AMBIENTALES
FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES

Resumen:

Castellano:

En la presente revisión bibliográfica se llevó a cabo una revisión de trabajos sobre los disruptores endocrinos (17α -etinilestradiol, 17β -estradiol, 4-nonilfenol, bisfenol A y ácido perfluorooctanoico) y su análisis sobre los efectos sobre el sistema inmune y el sistema reproductivo de los peces con el objetivo de conocer si existe relación entre la exposición a los mismos y la aparición de enfermedades viricas. Las modalidades de los disruptores endocrinos pueden ser estrogénicos (como, por ejemplo, 17β -estradiol) o antiandrógenos (como, por ejemplo, el ácido perfluorooctanoico) entre otros. Los estudios encontrados sobre los diferentes disruptores endocrinos son mayoritariamente sobre los efectos del sistema reproductivo. Hoy el estudio sobre el impacto sobre el sistema inmunológico de los peces ha aumentado su importancia por la mayor concentración de estos contaminantes ambientales y sus posibles efectos en el sistema inmunológico de los humanos.

Palabras claves: Disruptores endocrinos, sistema inmune, peces, bisphenol A, 17β -estradiol

Inglés:

In the present literature review, a review of studies on endocrine disruptors (17α ethinylestradiol, 17β -estradiol, 4-nonylphenol, bisphenol A and perfluorooctanoic acid) and the analysis of the effects produced on the immune system and the reproductive system of fish has been carried out with the aim of finding out if there is a relationship between exposure to them and the appearance of viral diseases. Modalities of endocrine disruptors can be estrogenic (e.g., 17β -estradiol) or anti-androgenic (e.g., perfluorooctanoic acid), among others. Studies on the various endocrine disruptors focus mainly on their effects on the reproductive system. Nowadays, the study of the effects on the immune system of fish has become more important due to the increased concentration of these environmental pollutants and their possible effects on the human immune system.

Keywords: Endocrine disruptor, immune system, fish, bisphenol A, 17β -estradiol

Lista de abreviaturas:

BPA: Bisfenol A

COPs: Compuestos Orgánicos Persistentes

E2: 17 β -estradiol

EDC: Disruptores endocrinos (del inglés endocrine disruptors)

EE2: 17 α -etinilestradiol

ER: Receptores del Estrógeno (del inglés Estrogen receptors)

IgM: Inmunoglobulina

KC: Características Clave (del inglés Key Characteristics)

NP: Nonilfenol

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PBB: Polibromobifenilo

PCB: Bifenilo Policlorado

PFAS: Sustancias químicas perfluoralquiladas

PFOA: Ácido perfluorooctanoico

PFOS: Sustancias de Perfluooctano

ROS: Especies Reductoras del Oxígeno

SIE: Sistema Inmune Específico

SII: Sistema Inmune Inespecífico

PPAR: Receptores activados por proliferadores de peroxisomas

Índice

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. ¿Que son los disruptores endocrinos?.....	5
1.2. Características clave de los disruptores endocrinos	6
1.3. ¿Dónde se encuentran los disruptores endocrinos?.....	12
1.4. Selección de disruptores endocrinos presentes en el medio ambiente	12
1.4.1. 17 β -estradiol	12
1.4.2. 17 α -etinilestradiol.....	13
1.4.3. 4-Nonilfenol.....	14
1.4.4. Bisfenol A	14
1.4.5. Ácido perfluorooctanoico	15
1.5. ¿Cuáles son los efectos de los disruptores endocrinos sobre el sistema inmune de los peces?	16
1.5.1. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la protección inmunitaria inespecífica o innata?	17
1.5.2. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la actividad de macrófagos?.....	18
1.5.3. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la protección inmunitaria específica?	18
1.5.4. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la actividad de los linfocitos?.....	19
1.6. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos al sistema reproductivo de los peces?	20
2. OBJETIVO	20
3. METODOLOGÍA	20
4. RESULTADOS	21
4.1. ¿Cómo afecta el 17 β -estradiol al sistema Inmune de los peces?	22
4.2. ¿Cómo afecta el 17 α -etinilestradiol al sistema Inmune de los peces?.....	22
4.3. ¿Cómo afecta el 4-Nonilfenol al sistema Inmune de los peces?.....	23
4.4. ¿Cómo afecta el Bisfenol A al sistema Inmune de los peces?	23
4.5. ¿Cómo afecta el ácido Perfluorooctanoico al sistema Inmune de los peces?	24
4.6. ¿Cómo afectan el 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, 4-Nonilfenol, Bisfenol A y el ácido Perfluorooctanoico al sistema reproductivo de los peces?	24
5. DISCUSIÓN	28
6. CONCLUSIÓN Y PROYECCIONES FUTURAS	30
7. BIBLIOGRAFÍA	31

1. INTRODUCCIÓN

Tras la pandemia de COVID-19 (21 de enero del 2020) la Organización Mundial de la Salud (OMS) acuñó el término «ONE HEALTH» —una salud— término que hace referencia a un equilibrio entre la salud humana, animal y ambiental. Sin embargo, tras la realización de diferentes estudios de los índices de contaminantes presentes en el medioambiente, se ha demostrado que estos se vieron reducidos de manera drástica solamente durante la cuarentena impuesta por la pandemia, pero cuando se restableció la actividad la contaminación ambiental volvió a alcanzar los datos prepandémicos [1].

Uno de los medios más castigados por la contaminación ambiental es el medio acuático debido a que es uno de los grandes sumideros de metales pesados, Compuestos Orgánicos Persistentes (COP,s) y Disruptores endocrinos (EDC, del inglés endocrine disruptors) entre otros. Debemos de tener en cuenta que la gran mayoría de las industrias; por ejemplo, la química, la térmica, la automovilística, utilizan el agua en alguna fase de su producción; y, también utilizan productos químicos que como consecuencia de la escorrentía superficial o a la percolación de dichos productos terminan en las aguas [1, 2].

1.1. ¿Que son los disruptores endocrinos?

La alteración endocrina es un tema de gran preocupación para la evaluación de la seguridad de los productos químicos. Por ello, en 1991 fue acuñado el término EDC por Theo Colborn en la declaración de Wingspread. En dicha reunión se concluyeron que *«Muchos compuestos introducidos en el medio ambiente por la actividad humana son capaces de alterar el sistema endocrino de los animales, incluidos los peces, la vida silvestre y los humanos. La alteración endocrina puede ser profunda debido al papel crucial que juegan las hormonas en el control del desarrollo»* Además, también se dieron los primeros pasos para reconocerlos como una problemática ambiental [3, 4].

Se propusieron seis conceptos fundamentales para poder reconocerlos [5]:

1. Los EDC son sustancias químicas en el medio ambiente que tienen actividad hormonal y su uso no está regulado.
2. Una pequeña dosis en el organismo tiene consecuencias fenotípicas.
3. El organismo es más vulnerable a medida que se desarrolla.
4. Lo que es malo para la vida silvestre, es malo para el ser humano.

5. El enfoque regulatorio sobre la mutagenicidad y la carcinogenicidad de los productos químicos conducirá a que se pasen por alto las malformaciones y los déficits funcionales causados por los EDC.
6. Es necesario desarrollar nuevas herramientas para identificar estos productos químicos y para el biomonitorio de las poblaciones.

Actualmente los EDC se definen como sigue:

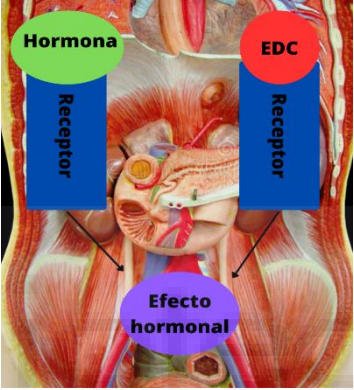
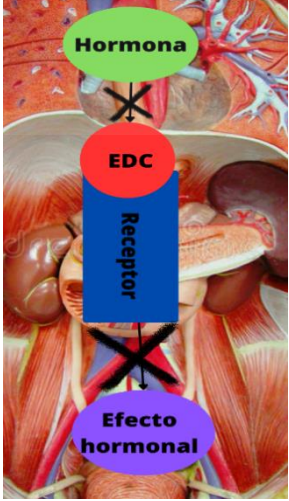
- OMS: Un EDC es una sustancia o mezcla exógena que altera la(s) función(es) del sistema endocrino y, en consecuencia, causa efectos adversos en un organismo intacto, o su descendencia, o (sub) productos [6].
- *Endocrine Society*: Un EDC es una sustancia química exógena, o una mezcla de sustancias químicas, que interfiere con cualquier aspecto de la acción hormonal [7].

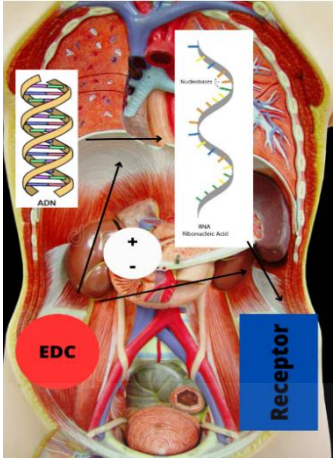
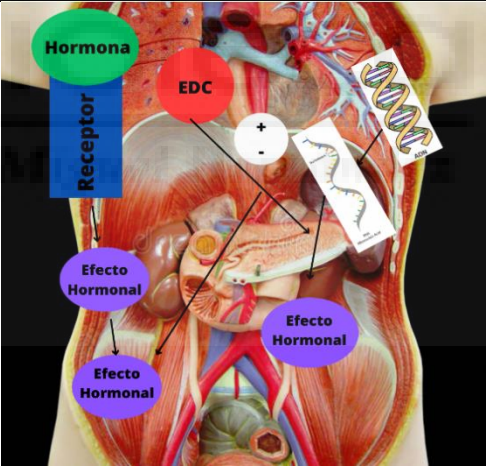
1.2. Características clave de los disruptores endocrinos

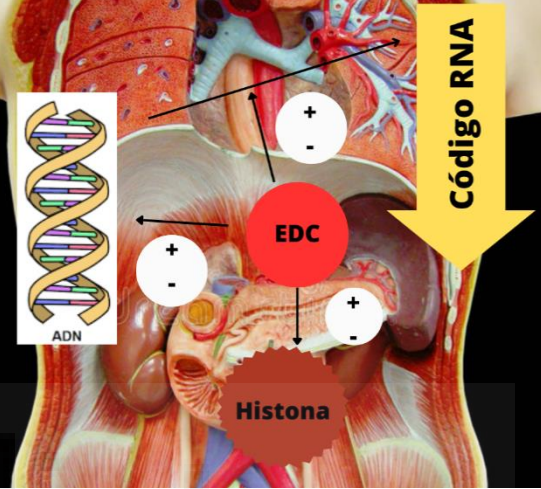
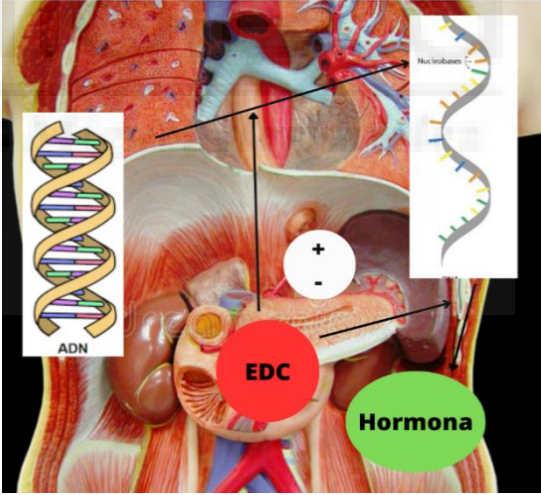
Recientemente se ha propuesto que la identificación de los EDC se realice mediante las «*características clave*» (KC, del inglés Key Characteristics) *de regulación y acción hormonal que son independientes de la diversidad de los efectos de las hormonas durante el ciclo de vida* [8]. Esto quiere decir que «*las KC de los EDC son las propiedades funcionales de los agentes que alteran la acción de las hormonas*» [8]. Este método de clasificación se basa en que toda sustancia química que tengan un efecto hormonal tiene una KC identificable que se puede relacionar con su capacidad para interactuar con el sistema hormonal.

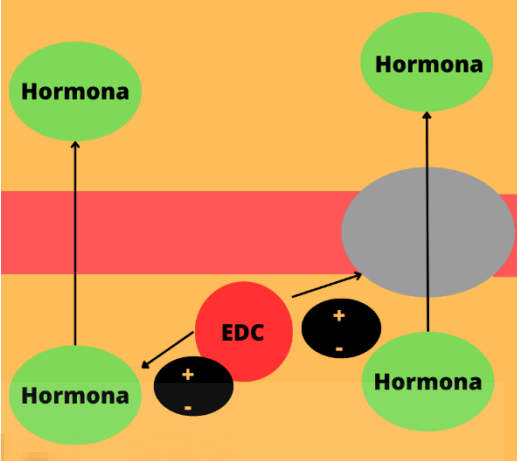
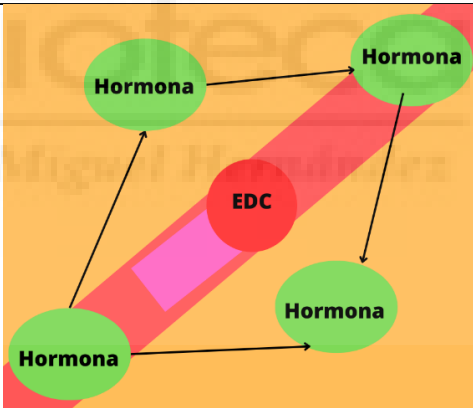
Se han identificado 10 KC considerando las KC con propiedades de los sistemas endocrinos, que representan las categorías para la organización de la evidencia mecánica. Como podemos ver en la tabla 1, los 10 KC pueden ser divididos en diferentes grupos según sus efectos, por ejemplo, el KC 1, 2 y 3 se pueden clasificar por su relación con receptores hormonales y dentro de estos también pueden ser clasificados por interactuar con ellos (KC1), por ser antagonistas (KC2) o por sus efectos hacia ellos (KC3), es decir, KC 1 actúa igual que una hormona por lo que el receptor no sabrá que se estará adhiriendo a él, el KC 2 hace que el receptor no pueda interactuar con una hormona y el KC 3 afecta a la interacción con receptores, es decir, puede disminuir o aumentar su cantidad o puede aparecer en otro lugar. Otra clasificación que encontramos es aquellas KC que afectan a las células, por ejemplo, encontramos que KC4 afecta a la transducción de señales en células sensibles a las hormonas, la KC5 induce modificaciones epigenéticas tanto en células productoras como las sensibles a las hormonas y el KC10 afecta el destino de las células productoras y sensibles. Y el último grupo, KC 6, 7, 8 y 9, que son aquellos KC que afectan directamente a la hormona: la síntesis (KC6), la distribución (KC8), su transporte (KC7) y el metabolismo (KC9).

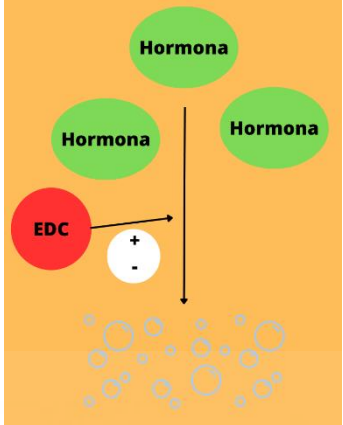
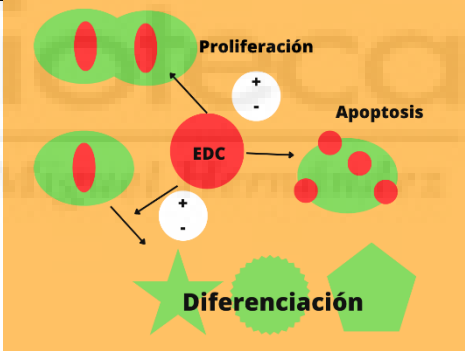
Tabla 1: Características clave, efectos y descripción de los disruptores endocrinos

Características claves	Ejemplos de efectos	Descripción gráfica	Referencias
<p>KC1: Interactúa con los receptores hormonales o los activa</p>	<p>Unión o agonismo de receptores hormonales, formación de escroto y un pene en cuerpos genéticamente femeninos, efectos biológicos adversos, activación de manera inapropiada los receptores de estrógeno (ERα y ERβ, del inglés Estrogen receptors), cáncer del aparato reproductor femenino y cáncer de próstata en los hombres, activación de los receptores de membrana celular de hormonas peptídicas y esteroides.</p>		<p>[9-15]</p>
<p>KC2: Antagoniza los receptores hormonales</p>	<p>Antagonismo de receptores hormonales nucleares o de superficie celular, inhibe la unión de andrógenos al receptor de andrógenos (AR) e inhibe la transactivación del AR dependiente de andrógenos en humanos, desmasculinización permanentemente a los fetos masculinos y provocar malformaciones del tracto genital.</p>		<p>[9, 16-22]</p>

<p>KC3: Altera la exposición del receptor hormonal</p>	<p>Abundancia, distribución y degradación de los receptores hormonales, modulación de la expresión, la internalización y la degradación de los receptores hormonales, alteración de la expresión de los receptores de estrógenos, oxitocina y vasopresina en los núcleos cerebrales, reducción de la degradación del ERβ mediada por proteasomas e interrupción la internalización de los receptores de la superficie celular.</p>		<p>[9, 23-27]</p>
<p>KC4: Altera la transducción de señales en células sensibles a hormonas</p>	<p>Abundancia de modificaciones postraduccionales, cofactores, alteración de la transducción de señales, bloqueo de la señalización de calcio inducida por glucosa baja en células α secretoras de glucagón pancreático, interrupción de la señalización del calcio, afectación de la acción de la insulina al reducir el sustrato del receptor de insulina 1, potenciación de la transcripción activada por ligando y la transcripción mediada por el receptor de progesterona.</p>		<p>[9, 28-31]</p>

<p>KC5: Induce modificaciones epigenéticas en células productoras de hormonas o sensibles a hormonas</p>	<p>Modificaciones de cromatina, metilación de ADN y expresión de ARN no codificante, aumento de la expresión de la ADN metiltransferasa DNMT3B para hipermetilar el ADN, desmetilación del ADN de MR, cambios en la expresión de los ARN no codificantes, pueden influir negativamente en la expresión del microARN en las líneas celulares de cáncer de placenta, de Sertoli y de mama.</p>		<p>[9, 25, 32, 33]</p>
<p>KC6: Altera la síntesis de hormonas</p>	<p>Expresión o actividad de enzimas o sustratos en la síntesis de hormonas bloqueo de la absorción de yodo en las células tiroideas, inhibición la síntesis de la hormona tiroidea, reducción y aumento de la síntesis de testosterona en los testículos, disminución de los niveles séricos de testosterona, aumento de los niveles de estrógenos y bloqueo la vía JAK-STAT3.</p>		<p>[9, 34-38]</p>

<p>KC7: Altera el transporte de hormonas a través de las membranas celulares</p>	<p>Alteración del transporte intracelular, dinámica de vesículas o secreción celular, reducción de la entrada de calcio en las células β pancreáticas, modulación de los iones para mejorar la secreción de insulina, y reducción de la secreción pasiva de corticosterona de las glándulas suprarrenales.</p>		<p>[9, 39-41]</p>
<p>KC8: Altera la distribución hormonal o los niveles circundantes de hormonas</p>	<p>Expresión de proteínas en sangre y capacidad de unión, niveles en sangre de prohormonas y hormonas, alteración de la biodisponibilidad hormonal, deterioro del suministro de hormonas activas a los tejidos diana, reducción de testosterona y estrógeno, y aumento de la concentración sérica de globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG).</p>		<p>[9, 42]</p>

<p>KC9: Altera el metabolismo o la eliminación de hormonas</p>	<p>Inactivación, descomposición, reciclaje, aclaramiento, excreción o eliminación de hormonas, alteración de las tasas de inactivación, degradación o eliminación metabólica de las hormonas, alteración de las concentraciones de hormonas y su actividad. Aumento de la eliminación de la hormona tiroidea de la sangre e inhibición de la eliminación de estrógeno de la sangre.</p>		<p>[9, 43, 44]</p>
<p>KC10: Altera el destino de las células productoras de hormonas o sensibles a las hormonas</p>	<p>Atrofia, hiperplasia, hipertrofia, diferenciación, migración, proliferación o apoptosis, alteración en el número total o el posicionamiento de las células en los tejidos productores de hormonas o sensibles a las hormonas, causar una morfología anormal, proliferación de células epiteliales mamarias, reducción células que expresan Erc, alteración de la migración placentaria.</p>		<p>[9, 45-49]</p>

Nota: las figuras de cada una de las KC fueron extraídas del documento [9]. El símbolo + y - significa que el EDC puede aumentar o disminuir el proceso y efecto

Los EDC afectan al sistema endocrino tanto de los animales, como de los peces, los invertebrados y humanos. El sistema endocrino está formado por glándulas que secretan hormonas las cuales interactúan con determinados receptores. Esta interacción entre las hormonas y los diferentes receptores regulan varias funciones fisiológicas del organismo esto quiere decir que cuando se produzca una interacción con un EDC no solo se verá afectada la reproducción (aunque sea uno de los efectos más estudiados) sino que también se verá afectado el desarrollo, el crecimiento, el sistema inmune, etc. Estos efectos serán más graves si el periodo de exposición al EDC coincide con la formación y diferenciación de los sistemas del organismo [8].

Sin embargo, hoy en día la forma de identificación de los EDC se basa en guías técnicas elaboradas por la OCDE. El documento con el conjunto de métodos de ensayo para la identificación de EDC se publicó originalmente en 2012, actualizado en 2018. Los métodos de ensayo están organizados en un marco conceptual realizados a diferentes niveles de organización biológica. Las preguntas abordadas por el documento hacen referencia al mecanismo de acción endocrina y cualquier efecto apical resultante que pueda atribuirse a dicha acción. El documento de orientación se centra en las modalidades endocrinas mediadas por estrógenos, andrógenos y tiroides y sustancias químicas que interfieren con la esteroidogénesis. Los 4 niveles son: Nivel 1: datos existentes e información nueva o existente que no es de prueba, Nivel 2: ensayos in vitro que se proporcionan datos sobre mecanismo(s)/vía(s) endocrino(s) seleccionado(s) métodos de mamíferos y no mamíferos, Nivel 3: ensayos in vivo que se proporcionan datos sobre mecanismo(s) endocrino(s) seleccionado(s), Nivel 4: ensayos in vivo que proporcionan datos sobre los efectos adversos en los criterios de valoración relevantes para el sistema endocrino y Nivel 5: ensayos in vivo que proporcionan datos más concretos sobre los efectos adversos en los puntos finales más relevantes para el sistema endocrino durante parte s más extensas del ciclo de vida del organismo. Dicho método de clasificación tiene sus detractores ya que cuesta mucho demostrar el mecanismo de acción de un EDC y eso causa más desastres medioambientales [50].

Hoy se conocen muchos contaminantes medioambientales cuya peligrosidad se centra en la alteración endocrina. Además, se conocen diferentes modalidades de dichos contaminantes: Estrogénicos ; 17β -estradiol (E2), 17α - etinilestradiol (EE2), Bisfenol A (BPA) y 4-Nonilfenol (NP); y disruptor tiroideo y antiandrógeno; Ácido perfluorooctanoico (PFOA). Aunque cabe mencionar que los EDC tienen diferentes mecanismos de acción y abarcan diferentes modalidades [51].

1.3. ¿Dónde se encuentran los disruptores endocrinos?

Los EDC son sustancias químicas que se encuentran en pequeñas cantidades en muchos productos diarios; cosméticos, champús, juguetes, muebles. Por ello, el lugar de exposición de los diferentes EDC son diversos y varían mucho a lo largo del mundo [52]. Además, la situación actual puede cambiar muy rápido debido a que algunos de los EDC fueron prohibidos hace décadas y otros más recientemente, con diferencias significativas entre países [53].

A lo largo de la historia también se encuentran grandes desastres medioambientales producidos por la liberación de diferentes EDC como los bisfenilos policlorados (PCB) o las dioxinas, que hacen visible una clara relación entre la sustancia química y la manifestación del efecto adverso en el organismo, ya sean disfunciones endocrinas o reproductivas, tanto en el ser humano como en la vida silvestre [54]

Cabe destacar que los EDC, como las dioxinas, los PCB, los polibromobifenilos (PBB) y los plaguicidas suelen tener grupos halógenos sustituidos por cloro y bromo. En ciertas ocasiones tienen un resto fenólico que se cree que imita a las hormonas esteroides naturales y permite que los EDC interactúen con los receptores de hormonas esteroides como análogos o antagonistas [55].

Por lo tanto, uno de los lugares más importantes a analizar para realizar un estudio de EDC son las áreas industriales ya que son zonas que se caracterizan por ser fuentes de sustancias químicas contaminantes. La mezcla de sustancias químicas puede ingresar a la cadena trófica porque las sustancias se acumulan en los eslabones más bajas de la cadena y, tras ir subiendo en dicha cadena, su concentración también lo hace porque los productos son bioacumulables hasta llegar a una concentración más elevada en los eslabones más altos [56]. Por ejemplo, la *Laminariales* (alga marina) tendrá una concentración menor de un EDC que cualquier depredador de la zona, por ejemplo, el tiburón. Aunque no es el tema de este trabajo, cabe decir que también puede llegar al ser humano [57].

1.4. Selección de disruptores endocrinos presentes en el medio ambiente

Múltiples EDCs se encuentran en el medioambiente entre los que se incluyen E2, EE2, BPA, NP o el PFOA.

1.4.1. 17 β -estradiol

El 17 β -estradiol (E2) es una hormona natural que circula de forma endógena en las mujeres [16, 51]. En la Figura 1 se observa su estructura química. Se usa en terapias hormonales sustitutivas. Sus efectos no solo son sobre el sistema reproductivo de los peces, provocan un deterioro de su esperma, interrupción del desarrollo de las gónadas, alteración de la hormona

esteroidea sexual o alteración del comportamiento sexual [58], y sobre el sistema inmune, afecta a la actividad in vitro de los macrófagos o, también, puede afectar a la susceptibilidad (aumentándola o disminuyéndola) de coger infecciones debido a su efecto sobre los leucocitos [59-61].

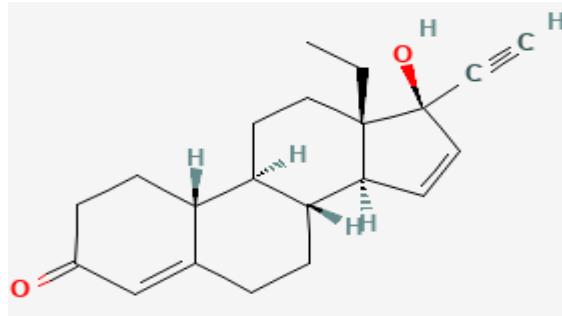


Figura 1: Estructura química del 17β-estradiol

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5757, estradiol. Recuperado el 24 de julio de 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Estradiol>.

1.4.2. 17α-etinilestradiol

El 17α-etinilestradiol (EE2) es una hormona sintética cuyo uso en seres humanos, se prescribe como terapia hormonal, pastillas anticonceptivas y regulador del ciclo menstrual. En la Figura 2 se observa su estructura química. No está prohibido y fue introducido en 1943 [16, 51]. Es un componente activo de las preparaciones anticonceptivas que es liberada al medioambiente mediante la micción de esta hormona y que, debido a la dificultad que tienen las Estaciones depuradoras de agua residual (EDAR) de eliminarla, termina liberándose al medioambiente. Sus efectos son sobre el sistema reproductivo y sobre el sistema inmune de los peces, como, por ejemplo, un estudio demostró que afecta al comportamiento de la natación de la larva del pez cebra y al desarrollo del sistema nervioso [62] o que provoca afección toxicológica en mejillones cebra cuando se combina con el aumento de las temperaturas [63].

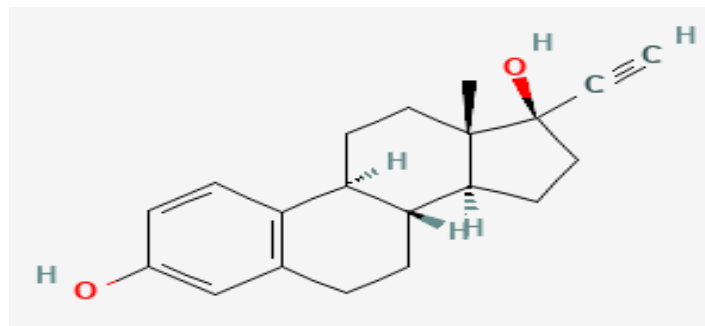


Figura 2: Estructura química del 17α-etinilestradiol

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5991, etinilestradiol. Recuperado el 24 de julio de 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethinyl-estradiol>.

1.4.3. 4-Nonilfenol

El 4-nonilfenol (NP) es un EDC estrogénico de origen industrial que se ha empezado a controlar su uso debido a su peligrosidad para el medio silvestre [16, 51]. En la Figura 3 se observa su estructura química. Es un compuesto químico muy utilizado en la fabricación de productos de limpieza, pesticidas o resinas. También se usa en la producción de etoxilatos de nonilfenol que cuyo uso principal es un limpiador industrial. El NP es tóxico para la vida acuática afectando principalmente a los bivalvos, siendo esta una de las principales causas de su desaparición [64]. Además, el NP afectan a los elementos celulares que regulan el sistema inmune inespecífico (SII) de los invertebrados marinos, disminuye la estabilidad de la membrana lisosomal, afectan a los recuentos de hemocitos y la frecuencia de su tamaño [65-67].

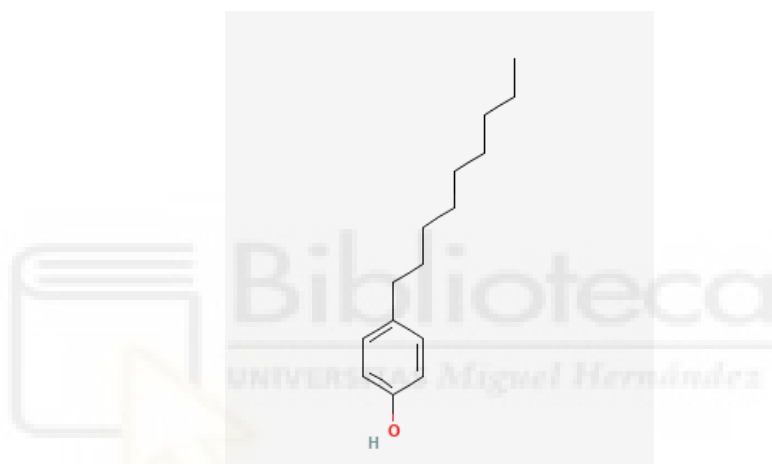


Figura 3: Estructura química del 4-nonilfenol

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen de compuestos de PubChem para CID 1752, 4-nonilfenol. Recuperado el 24 de julio de 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Nonylphenol>.

1.4.4. Bisfenol A

El bisfenol-A (BPA) es un EDC estrogénico y de origen industrial introducido en 1960 [16, 51]. En la Figura 4 se observa su estructura química. Se usa en la fabricación y producción de plásticos de policarbonato y de la resina epoxi, que es utilizada en sellados dentales, papel térmico entre otras muchas cosas [68]. El BPA se encuentra ampliamente distribuido en el medioambiente, lo podemos encontrar en el agua, en el suelo, en el aire, en los animales, para que nos hagamos una idea del alcance del BPA en el medioambiente, este se libera al año en torno a 1 millón de libras (453592,37 kg) [69]. El BPA puede producir diferentes daños: oxidativos, mutagénicos e hipometilaciones. Además de interferir en una gran variedad de efectos hormonales entre los que se encuentran las hormonas sexuales, la insulina y la

tiroxina y eso conlleva toxicidad, inmunotoxicidad, cáncer y problemas en la reproducción [70-72].

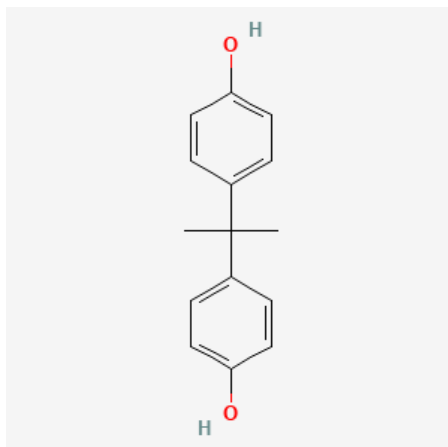


Figura 4: Estructura química del bisfenol A

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen de compuestos de PubChem para CID 6623, bisfenol A. Obtenido el 24 de julio de 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bisfenol-A>.

1.4.5. Ácido perfluorooctanoico

El ácido perfluorooctanoico (PFOA) es una de las sustancias químicas perfluoroalquiladas (PFAS) más representativas cuyas modalidades como EDC son alteración tiroidea y acción antiandrogénica [51]. Tiene una larga cadena de flúors y debido a que tiene un extremo hidrofílico y otro hidrofóbico o su proteinofilia repelen las grasas, el agua y la suciedad. En la Figura 5 se observa su estructura química. Tienen una gran movilidad en el medio acuático y una gran afinidad por las proteínas del hígado y del plasma [73]. Son una gran preocupación para el medioambiente debido a su alta persistencia, han sido añadidos a la lista de COPs del convenio de Estocolmo. Los PFOA son sustancias tóxicas para los organismos acuáticos y sus principales órganos diana son el hígado y el riñón [73].

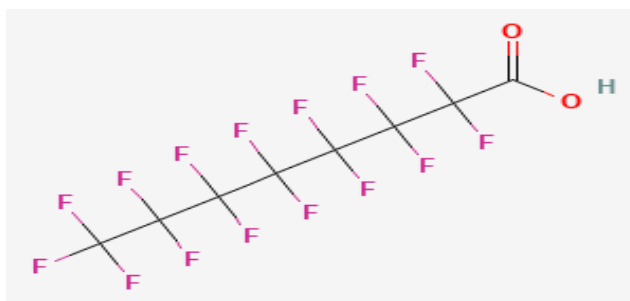


Figura 5: Estructura química del ácido perfluorooctanoico

Centro Nacional de Información Biotecnológica (2023). Resumen de compuestos de PubChem para CID 9554, ácido perfluorooctanoico. Recuperado el 24 de julio de 2023 de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Perfluorooctanoic-acid>.

1.5. ¿Cuáles son los efectos de los disruptores endocrinos sobre el sistema inmune de los peces?

El sistema inmune de los peces es muy similar al de los vertebrados superiores. No obstante, la no presencia de medula ósea en los peces hace que sea casi imposible diferenciar entre órganos hemapoyéticos y órganos linfoides primarios y secundarios [74]. Sin embargo, como podemos ver en la Figura 6 muchos de los autores, a falta de una clara decisión, pasaron a llamarlos órganos linfo-hemapoyéticos [75].

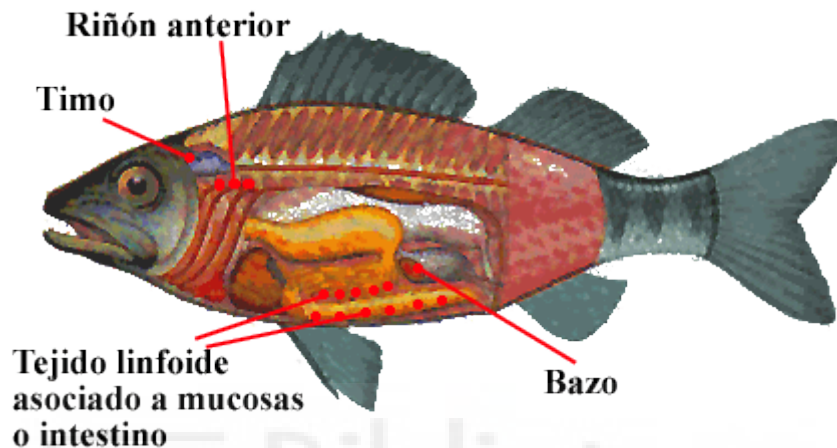


Figura 6: Localización de los principales órganos linfo-hemapoyéticos de los peces [75]

La respuesta inmune se puede dividir en dos grupos. El primer grupo es la respuesta del SII, que consiste en una serie de mecanismos muy antiguos que pueden eliminar los patógenos del organismo o impedir su entrada. El segundo grupo es la respuesta inmune adaptativa o específica (SIE, sistema inmune específico) que es inducible y requiere la presencia de una serie de células que reaccionan específicamente con el antígeno inductor y que son los linfocitos. Se llama respuesta adaptativa debido a que intervienen dos elementos: La respuesta humoral (mediada por los anticuerpos) y la respuesta celular (mediada por los linfocitos T) [76].

Independientemente de que efecto se manifieste tras el ataque de un organismo extraño debemos saber que siempre habrá una respuesta del sistema inmune que se defenderá mediante la interacción de la mayoría de las células que los conforman [75]. En la Figura 7 podemos ver el origen de dichas células.

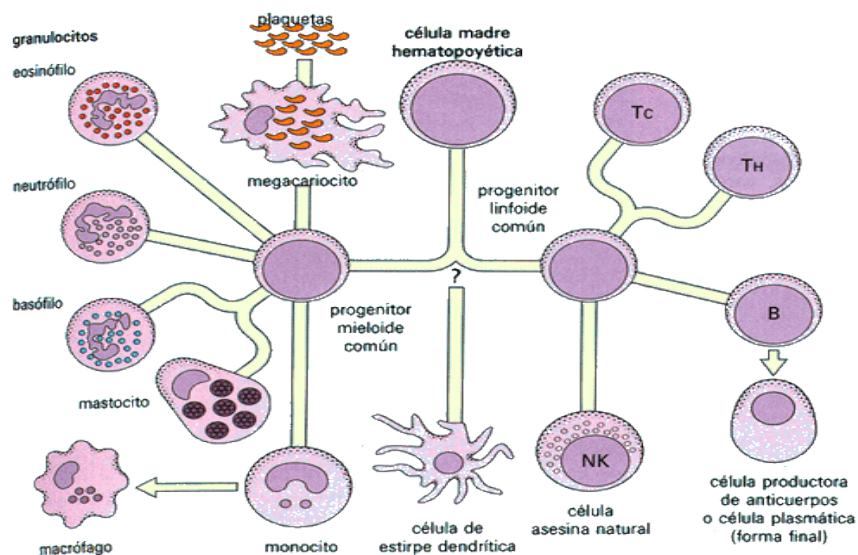


Figura 7: Origen de las células que intervienen en la respuesta inmune. Las células del sistema inmune de los peces parten de una célula en común, la célula madre hemapoyética, que con la especialización se obtienen diferentes células con diferentes funciones [75]

1.5.1. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la protección inmunitaria inespecífica o innata?

El SII está comprendido por un grupo de factores humorales, celulares y tisulares. Es el más importante y la primera línea de defensa ante un agente extraño. Es inespecífico porque su mecanismo de acción es independiente al origen del antígeno. La gran mayoría de los agentes implicados en la defensa del organismo están formados por constituyentes naturales del cuerpo del animal, sin embargo, la respuesta puede variar en el transcurso de la infección [77].

En general, los tratamientos con estrógenos provocan una disminución en la actividad de los genes inmunitarios. Por ejemplo, en un experimento con el lenguado europeo (*Platichthys flesus*) se obtuvo como resultado que los genes relacionados con la inmunidad se veían reducidos tras una exposición a estrógenos [78].

Por otro lado, los EDC similares a los estrógenos deprimen las proteínas inmunitarias. Por ejemplo, tras el tratamiento con NP, los componentes que forman parte del complejo C3, C8b y C9 se comportaron de forma diferente en el hígado del lenguado de invierno (*Pleuronectes americanus*) [79]. Recientemente también se ha demostrado que otras enzimas que protegen a los peces se ven afectadas por este tipo de xenobióticos. Por ejemplo, a lisozima, que modifica las paredes celulares de las bacterias gram+, ante una exposición a PCB, ve disminuida su actividad en trucha alpina (*Salvelinus alpinus*) [80, 81].

En resumen, se puede decir que el SII se ve afectado en presencia de EDC similares a los estrógenos sexuales y de los EDC (anti)androgenomiméticos. Aunque en este último los casos son insuficientes. Por otro lado, también indicar que, en general, los EDC que afectan al sistema reproductivo también afectan al SII (hablaremos más en detalle de esto en el apartado 1.5).

1.5.2. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la actividad de macrófagos?

Los macrófagos son leucocitos de gran tamaño cuyo objetivo es la eliminación, mediante la fagocitación, de partículas y patógenos de gran tamaño y sus células transportadoras, y que tienen efectos adversos para el organismo. No obstante, en presencia de EDC dicha actividad defensora se puede ver afectada [82].

Para poder entender la relación que puede haber entre la actividad de macrófagos y los EDC hace falta entender que el proceso respiratorio de estas células da como fruto la producción de especies reductoras del oxígeno (ROS) [83]. Sin embargo, si a dicho proceso le añadimos un EDC el proceso varía desde una inhibición [84] hasta un aumento en el proceso respiratorio [85]. Por lo tanto, sí que se puede decir que en presencia de EDC la actividad respiratoria de los macrófagos se inhibe [86].

En conclusión, la actividad de los macrófagos se ve afectada por la presencia de los agonistas de ER endógenos y exógenos y de los xenoandrógenos, pero esta última no siempre los afecta [87, 88].

1.5.3. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la protección inmunitaria específica?

El SIE se basa en los cambios adaptativos que ocurren dentro de las poblaciones linfoides (linfocitos T y B), dirigidos a la estructura del organismo extraño que causó su activación [89]. Además, a diferencia del SII, el SIE sí que tiene memoria, por lo que ya tendría defensas contra el ataque del mismo agente extraño. Múltiples estudios afirman que hay una interacción bidireccional entre la actividad de los esteroides sexuales y el SIE. Por lo tanto, se ha demostrado que una variación en los esteroides sexuales provoca un efecto adverso en la respuesta inmunitaria [90].

Por un lado, hay estudios que afirman que el grado de excitación del sistema inmune está asociado a los niveles de esteroides sexuales [91], y, por otro lado, hay estudios en los que observaron que a veces se producían cambios en el SIE de aquellos peces que habían sido tratados con miméticos de estrógeno y andrógeno [86, 92, 93].

Además, se ha demostrado que las PFAS son tóxicas para el sistema inmune, es decir, una temprana exposición al PFOA puede causar una modificación irreversible en el sistema inmune [94]. Muchas de estas sustancias causan inmunotoxicidad que se puede ver en la actividad fagocítica y de la lisozima. Estos, inducen efectos como, por ejemplo, la inhibición de la proliferación de las células inmunitarias en los peces. Los PFOA dependiendo de la dosis pueden causar incluso la muerte [95]

Por lo tanto, se podría decir que hay una relación, independientemente de la modalidad de EDC, entre el deterioro del SIE y la variación en los estrógenos sexuales. Además de que las PFAS son tóxicas para el sistema inmune.

1.5.4. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos a la actividad de los linfocitos?

Los linfocitos o glóbulos blancos se transportan por todo el cuerpo mediante la sangre y la linfa, y se acumulan en los órganos linfáticos [75]. Sin embargo, en los peces también se pueden encontrar en otros tejidos como la epidermis o tejidos afectados por procesos inflamatorios [96]. Además, juegan un papel muy importante ante una respuesta inmunológica pues son los responsables de que se produzca una respuesta celular, que se traduce en la producción de anticuerpos (respuesta humoral), la capacidad citolítica, el proceso de memoria inmunológica y la liberación de factores reguladores de la función inmune, como las linfocinas [97].

Los EDC estrogénicos y los EDC androgénicos tienen un papel importante en la homeostasis hematológica ya que pueden impedir la proliferación de los linfocitos, aunque podemos encontrar información contradictoria [88]. En algunos casos provocan la proliferación de linfocitos y la producción de inmunoglobulina (IgM) [98-100], y en otros provoca todo lo contrario [84, 101-103]. Por ejemplo, una exposición a BPA induce la proliferación de linfocitos en la dorada mientras que una exposición continuada a NP o la inyección de EE2 mostró un resultado contrario en la carpa [104, 105].

En los peces, los estrógenos, y los EDC que son similares a los estrógenos, producen efectos de proliferación/apoptosis de los linfocitos mientras que, los andrógenos tienen un efecto contrario, es decir, antiproliferación de los linfocitos [106]. Por otro lado, en vertebrados mamíferos, los PFOA, y el sulfonato de perfluorooctano (PFOS), entre otros, favorecen la proliferación de células T y/o B, que inducen la proliferación peroxisomal, inducen hepatomegalia, alteran la esteroidogénesis y disminuyen el peso corporal, acompañados de un síndrome de emaciación [107]

1.6. ¿Cómo afectan los disruptores endocrinos al sistema reproductivo de los peces?

Hay dos tipos de EDC según sus efectos, por un lado, tenemos aquellos que afectan a más de una determinada función fisiológica que son aquellos EDC que tienen una función pleiotrópica —que quiere decir que tiene más de una función— y aquellos que afectan al sistema reproductivo. Estos últimos son los EDC estrogénicos ya que la diferenciación sexual y, por ende, la reproducción está regulada por los estrógenos [108-111]

El motivo de afección del sistema reproductivo se debe a que los EDC estrogénicos se pueden mimetizar con la hormona estrogénica [112]. Además, hay múltiples estudios que afirman y verifican que hay una gran variedad de compuestos ambientales que interfieren en la reproducción en los teleósteos [113, 114]. Uno de los efectos más producidos por este tipo de sustancias es la producción de individuos intersexuales [115].

En conclusión, el ciclo reproductivo de los peces está regulado por el cambio estacional de los estrógenos sexuales en plasma y por los cambios en sus parámetros inmunológicos que los hace más sensibles o menos a la presencia de parásitos. Por lo tanto, aunque se vea afectado el sistema reproductivo también afecta, de manera indirecta, al sistema inmune y por ello decimos que los EDC afectan a más de una función fisiológica.

2. OBJETIVO

El objetivo general de este TFG es realizar una revisión de los EDCs más representativos en el medio ambiente y ver si existe relación entre los efectos que produzcan en el sistema inmune de los peces y la aparición de alguna enfermedad vírica en estos. Y como objetivos específicos tenemos la búsqueda de los EDC más importantes en el medio ambiente y, por otro lado, el análisis de los efectos de los EDC sobre el sistema inmune de los peces.

3. METODOLOGÍA

Para realizar una exhaustiva evaluación de la situación de los EDC y con la meta de lograr alcanzar el objetivo mencionado en el apartado anterior he realizado una búsqueda en múltiples bases de datos: en Pubmed, ScienceDirect, y Scopus, a parte, los documentos obtenidos me han llevado a otras bases de datos, revistas y editoriales científicas como, por ejemplo, Oxford academic, inderscience Online, ACS Publications, Annual Reviews. Al realizar la búsqueda el número de documentos encontrados ha sido escaso. La búsqueda se realizó hasta el 2023, 03/05/2023, y la clasificación de dichas búsquedas está realizadas en forma de prisma, cuya forma de exposición consiste en determinar el número de documentos encontrados en las bases de datos y comenzar a detallar la forma más exacta de dicha

búsqueda (o lo que es lo mismo, determinar cuántos documentos he encontrado, cuantos he descartado, cuantos solo me he leído el resumen y, por último, cuantos me he leído completamente) [116]. En total, se realizaron 3 búsquedas cuyas palabras claves fueron:

- 1ª búsqueda: “endocrine disruptors” and “fish” and “infection”

En la primera búsqueda se obtuvieron un total de 25 documentos y tras realizar una búsqueda en otras bases de datos (pude eliminar un total de 5 documentos), del resto me leí el título de todos ellos y eliminé aquellos que no fueran necesarios o no tuvieran relación con el tema. Tras este análisis, seleccioné 5 documentos relacionados con el tema escogido para el TFG. Leí completamente los 5 artículos y, tras realizar un estudio, terminé desechando 2 puesto que —pese a que utilizaba diferentes palabras— repetían lo mismo que decían los otros tres documentos.

- 2ª búsqueda: “endocrine disruptors” and “immune system” and “fish”

Para la segunda búsqueda tuve que realizar un filtro temporal, ya que aparecieron 125 documentos. Por lo tanto, tras realizar un filtro temporal de 1 año, 2023, me aparecieron un total de 5 documentos. Después, realicé el mismo proceso que la 1ª búsqueda: eliminación de los documentos repetidos en otras bases de datos, lectura del título, lectura del resumen; que me ayudó a eliminar 2 documentos y una lectura final de los documentos restantes, me quedé con un total de 2 documentos.

- 3ª búsqueda: particular endocrine disruptors and “fish” and “infection”, por ejemplo: “4-nonilfenol” and “fish” and “infection”

En la última búsqueda tuve en cuenta diferentes EDCs que afectan a los peces: EE2, E2, NP, BPA y PFOA. En este caso, las 5 búsquedas no obtuve más de 25 documentos (es un tema muy poco estudiado). Como en anteriores búsquedas hice una búsqueda en otras bases de datos, una lectura de los títulos y una lectura de los resúmenes, que me ayudó a eliminar 3 documentos en cada EDC. Me dejó 10 documentos, los cuales me leí y pude eliminar un documento de cada uno pues utilizando diferentes palabras expresaban la misma información.

4. RESULTADOS

Debido a la influencia de la actividad humana en los medios acuáticos hay múltiples contaminantes que estresan física y químicamente a los peces. Estos efectos pueden verse en el sistema reproductivo y en el sistema inmune, como podemos ver en la tabla 2. Entre estos contaminantes se encuentran los EDC que no hay que olvidar que, a pesar de sus múltiples estudios sobre su afección sobre el sistema reproductivo, tienen efectos

inmunomoduladores en los peces: afectan la respuesta inmunitaria innata pero también a la respuesta inmune adaptativa [73].

4.1. ¿Cómo afecta el 17 β -estradiol al sistema Inmune de los peces?

El E2 es uno de los EDC más representativos cuando hablamos de sus efectos sobre el sistema inmune de los peces, por ejemplo, afecta a la actividad in vitro de los macrófagos, afecta a su susceptibilidad (aumentándola o disminuyéndola) de coger infecciones [76, 98, 101, 117].

Entre los efectos observables se destaca una alteración en el *ER2b* o la supresión de la síntesis de IgM y la inhibición de las células productoras de IgM [84] y los linfocitos, pero también afecta a la resistencia de un organismo frente a una enfermedad y produce inhibición de la proliferación provocada por mitógenos leucocitarios, la quimiotaxis, la producción de aniones superóxido y óxido nítrico y la fagocitosis [91, 118]. Además, también provoca un estallido respiratorio y la producción de interleucina-1 β (IL-1 β) y el aumento en la movilidad de granulocitos acidófilos desde el riñón hasta los testículos [119]. También puede afectar a las células T $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$ (son una clase de linfocitos T, por un lado tenemos $\alpha\beta$ que son receptores de TcR- $\alpha\beta$; receptor de proteínas de las células T; que se encuentran en el bazo y en ganglio y por otro lado tenemos $\gamma\delta$ que son los receptores de TcR- $\gamma\delta$ y se encuentran en el epitelio [120]), generan hipertrofia (aumento del volumen de un tejido biológico debido a los componentes celulares), afecta a la actividad de los macrófagos y reduce la expresión y presencia del receptor de estrógeno (ER, del inglés estrogen disruptor) [119, 121].

4.2. ¿Cómo afecta el 17 α -etinilestradiol al sistema Inmune de los peces?

Actualmente estudios realizados sobre los efectos del EE2 en el sistema inmunológico de los peces son relativamente pocos mientras que los estudios realizados hacia sus efectos sobre el sistema reproductivo son relativamente más amplios [122].

Los estudios realizados sobre el sistema inmune han demostrado que los efectos del EE2 se hacen más notables si, además de la exposición al EE2, también se expone al pez a un parásito. Por ejemplo, los estudios demostraron un aumento de la transcripción del receptor de estrógeno $\alpha 2$ (*ER $\alpha 2$, del inglés estrogen receptor*) en la cabeza del riñón (HK, en inglés head kidney) era más significativa en aquellas especies que habían sido infectadas que en aquellas que solo habían sido expuestas al EDC [123]. Además, también observaron una reducción de la transcripción del receptor de estrógenos $\alpha 1$ (*ER $\alpha 1$, del inglés estrogen receptor*) y *ER $\alpha 2$* en HK, y un aumento en la transcripción del receptor de estrógeno $\beta 1$ y $\beta 2$ (*ER $\beta 1$ y ER $\beta 2$, del inglés estrogen receptor*). Y si nos fijamos en la transcripción del receptor de estrógeno asociado a la proteína G (GPER, del inglés G protein-associated estrogen

receptor) podemos ver que una exposición a EE2 no tendrá efecto sobre ella, pero si la exposición es de EE2 junto con el parasito se produce una disminución de la transcripción de *GPER* a nivel de ARNm en el hígado. Otros efectos observados sobre el sistema inmune fueron la disminución de la encefalopatía de grado 3 (C3-3) o la disminución de la hepcidina (péptido antimicrobiano) y la afectación de los linfocitos T helper (Th 1-like) [123, 124].

4.3. ¿Cómo afecta el 4-Nonilfenol al sistema Inmune de los peces?

Los estudios sobre los efectos del NP sobre el SII se refieren principalmente a los bivalvos, pues son especies que viven en zonas próximas a la costa y son los filtradores de agua naturales más importantes en las zonas costeras, ya que filtran el agua al alimentarse, limpiando grandes volúmenes de agua y absorbiendo los posibles contaminantes que haya en ella. Esa actividad alimentaria-filtradora de los bivalvos es el motivo por el cual podemos encontrar grandes cantidades de contaminantes acuáticos, en este caso NP, en los bivalvos [65].

El NP en invertebrados acuáticos (medusas, corales, caracoles, bivalvos entre otros) solo afecta al SII debido a que estos no tienen un SIE. En este caso, el NP disminuye la estabilidad de la membrana lisosomal, además de afectar a los recuentos de hemocitos y la frecuencia de su tamaño, y disminuye la estabilidad de la membrana de los hemocitos. También afecta a la actividad de la lisozima, al mismo tiempo que aumenta la apoptosis de los hemocitos [125] y altera la fagocitosis [126, 127].

4.4. ¿Cómo afecta el Bisfenol A al sistema Inmune de los peces?

Uno de los principales sistemas a los que afecta el BPA es el SII [128]. Los estudios han demostrado que existe una relación directa entre el sistema inmunológico de los peces y el sistema endocrino y reproductivo, por lo tanto, esta relación explica los efectos que pueden tener las hormonas esteroides, sobre la función inmunitaria de los peces durante el desarrollo embrionario. El BPA tiene un gran parecido con los estrógenos y por lo tanto podría unirse con los ER o los receptores de andrógeno (AR, del inglés androgens receptors) o los receptores de hidrocarburos de arilos (AhR, del inglés aryl hydrocarbon receptor) o los receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR, del inglés Peroxisomal proliferator activated receptors) [77, 129-131].

Por lo tanto, el BPA puede afectar a diferentes funciones fisiológicas y por eso mismo se puede decir que a nivel de efectos tóxicos producidos en el organismo el BPA puede producir diferentes daños: oxidativos, mutagénicos e hipometilaciones. Por ejemplo, los efectos del SII son: alteración en la actividad de la lisozima, aumento del nivel de superoxidación (un aumento

del del nivel de superoxidación aumenta el riesgo de padecer efectos en el sistema inmune), aumento en el número de células T, alteración en la expresión del gen mieloperoxidasa (MPX), del gen catalasa (CAT), del receptor tipo toll 3 (TLR3) y del receptor tipo toll 2 (TLR2), y alteración en todos los genes relacionados con el sistema inmune [132].

4.5. ¿Cómo afecta el ácido Perfluorooctanoico al sistema Inmune de los peces?

Una exposición a PFOA puede inhibir el SIE y afecta a la susceptibilidad del organismo a cualquier componente externo. Encontramos que el PFOA tiene un efecto de inhibición sobre él durante el desarrollo embrionario. Por ejemplo, una alta concentración de dicho EDC en el organismo hace que la concentración de neutrófilos baje en los sitios donde se produzca una herida [133], y con respecto a los estudios encontrados sobre la influencia del PFOA sobre el sistema inmunitario prácticamente en su totalidad hablan de los efectos sobre el riñón anterior del organismo acuático, el cual es el principal órgano hematopoyético de los peces [134-136].

Entre los efectos encontrados está la inhibición de las células hepáticas de pez cebra (ZFL, del inglés Zebrafish liver cells) dependiendo de la dosis de exposición, siendo mayoritaria a mayor dosis. Además, también afecta a la morfología de dichas células debido a la formación de vacuolas que se debió al daño estructural provocado debido a la característica tóxica de la sustancia [133]. Otro de los efectos hallado en este estudio fue el inusual comportamiento de ciertos genes en presencia de este EDC en el organismo (un total de 520 genes), observándose un fallo en la transcripción de estos. Además, también se encontró que inducían hipertrofia hepática, esteatosis, insuficiencia orgánica, fibrosis renal, síntomas alérgicos, y alteraciones en los receptores tipo Toll (son sensores de reconocimientos del sistema inmune innato que reconocen las características de las superficies de los patógenos o que son liberados por tejidos necróticos)

4.6. ¿Cómo afectan el 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, 4-Nonilfenol, Bisfenol A y el ácido Perfluorooctanoico al sistema reproductivo de los peces?

El estudio de los efectos que tienen sobre el sistema reproductor de los peces los diferentes EDC son más amplios que sobre el sistema inmune. Por ejemplo, los estudios sobre los efectos que produce el EE2 sobre el sistema reproductivo afirman que reduce el estado endocrino reproductivo, y la fecundidad y produce intersexualidad de la generación F1 [137]. Por otro lado, tenemos al E2 cuyos efectos sobre el sistema reproductivo más destacados son la producción de vitelogenina en machos, interrupción de la producción de huevos y reducción de población de la generación F2 [137].

Con respecto al 4-nonilfenol los efectos sobre el sistema reproductor más destacados son: reducción de la fecundidad, inhibe el desarrollo, disminuye la motilidad de los espermatozoides, altera la proporción de sexos, aumenta el porcentaje de hermafroditismo, retrasan la espermatogénesis y produce anomalías en el desarrollo y crecimiento lento [138].

El BPA puede interferir en una gran variedad de efectos hormonales entre los que se encuentran las hormonas sexuales, cuyos principales efectos son: reducción en la eclosión, aumento de la mortalidad en generaciones F1, retraso de la maduración ovárica, afecta el crecimiento y desarrollo, disminuye la fertilidad y la fecundidad e induce el inicio temprano de la pubertad en las crías hembras y en la descendencia masculina disminuye la distancia anogenital [70, 139]

Y, por último, entre los efectos del PFOA sobre el sistema reproductivo de los peces se ha encontrado que afecta la síntesis de hormonas sexuales y sus receptores, provoca síndrome de ovario poliquístico y endometriosis, además de apoptosis en los ovocitos y disminución en la tasa de pronúcleos [140].



Tabla 2: Tabla resumen de los resultados de los diferentes disruptores endocrinos expuestos en el trabajo

Cont.	NOAEL	LOAEL	TDR	ESI	ESR	REF
E2	ND	ND	2 - 3 días	Afectación a las células T $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$, carácter oncogénico, afección del sistema de ER $esr2b$ y $gpera$ y generación de hipertrofia, afecta a la actividad de los macrófagos y afectar a susceptibilidad de los peces a coger infecciones.	Producción de vitelogenina en machos, interrupción de la producción de huevos y reducción de población de la generación F2.	[51, 65]
EE2	ND	ND	2 - 3 días	Reducción de los ER α 1,2, aumento de los ER β 1,2, disminución de la GPER (L) [EDC + PARASITO], disminución de la C3-3, disminución de la Hpcidin y afectación de Th 1-like.	Reducción del estado endocrino reproductivo y menor fecundidad intersexualidad de la generación F1.	[51, 65, 123]
NP	15	50	10 años*	Disminuye la estabilidad de la membrana lisosomal de los hemocitos, altera la fagocitosis, afecta los recuentos de hemocitos y la frecuencia de distribución del tamaño, disminuye la estabilidad de la membrana de los hemocitos y la actividad de la lisozima y aumenta la apoptosis de los hemocitos.	Reducción de la fecundidad, inhibe el desarrollo, disminuye la motilidad de los espermatozoides, altera la proporción de sexos, aumenta el porcentaje de hermafroditismo, retrasan la espermatogénesis y Anomalías en el desarrollo y crecimiento lento.	[51, 126, 127, 138, 141]

BPA**	50	500/600	4 – 5 horas	Alteración en la actividad de la lisozima, aumento del nivel de superoxidación***, aumento en el número de células T, alteración en la expresión del gen MPX, del gen CAT, del gen TLR3, de TLR2 y prácticamente hubo alteración en todos los genes relacionados con el sistema inmune.	Reducción en la eclosión, aumento de la mortalidad en generaciones F1, retraso de la maduración ovárica, afecta el crecimiento y desarrollo, disminuye la fertilidad y la fecundidad e induce el inicio temprano de la pubertad en las crías hembras, en la descendencia masculina disminuye la distancia anogenital, disminuye la asignación reproductiva femenina y aumenta las tasas de aborto.	[51, 132, 142, 143]
PFOA	ND****	30****	2 – 4 años	Induce hipertrofia hepática, esteatosis, insuficiencia orgánica, fibrosis renal, síntomas alérgicos, receptores tipo Toll.	Afectar la síntesis de hormonas sexuales y sus receptores, síndrome de ovario poliquístico, endometriosis, apoptosis en los ovocitos, disminución en la tasa de pronúcleos.	[51, 140, 144]

Datos: Cont: contaminación, TDR: tiempo de retención, ESR: Efectos sistema reproductor, ESI: Efectos sistema inmune, Ref: Referencia y las unidades del NOAEL y LOAEL: mg/kg bw/día

* Es necesario un almacenamiento en compuestos orgánicos, ** Muchos efectos son compartidos con sus análogos, *** Un aumento del del nivel de superoxidación aumenta el riesgo de padecer efectos en el sistema inmune y **** El NOAEL y el LOAEL varían en función de la modalidad del EDC

5. DISCUSIÓN

La actividad antropogénica ha ido cambiando a pasos agigantados y eso ha provocado un cambio rápido y brusco en las condiciones que experimenta el medioambiente y con ellos todos los organismos que viven en él. Esto tiene como consecuencia que los organismos acuáticos —además de vivir bajo unas condiciones de estrés natural— tengan que soportar un estrés antropogénico continuo.

Este trabajo realizado es una revisión bibliográfica de algunos de los EDC que podemos encontrar en el medio ambiente, algunos de ellos son contaminantes emergentes, y sus efectos sobre los organismos acuáticos, más concretamente los peces. El trabajo sirve para futuras investigaciones de los posibles efectos de dichos contaminantes y su peligrosidad para el medio ambiente. Entre los compuestos que se han mencionado a lo largo del trabajo destacan los de la modalidad estrogénica (BPA, EE2, E2, NP) cuyos efectos más estudiados son aquellos que afectan al sistema reproductivo, aunque como hemos podido ver, también afectan al sistema inmune, y las modalidades antiandrógenos y disruptor tiroideo que hemos estudiado los PFOAS el sustancia químico más representativo de los PFOS, cuyo efecto es principalmente sobre el sistema inmune pero al igual que los demás disruptores endocrinos también encontramos efectos sobre el sistema reproductivo.

No hay que olvidar que la problemática de los EDCs y el medio ambiente no es nueva, ya que hay datos documentados de antes de que acuñara el término EDC (años 50, 60, 70, 80 y 90). Por ejemplo, en 1952, en Estados Unidos, se documentó una disminución en el número de individuos del águila calva y esto se debía a que el 80% de estos eran estériles debido a dicloro difenil tricloroetano (DDT, es un insecticida organoclorado de uso común. Tiene un papel como acaricida de difenilo puenteado, agente cancerígeno, contaminante orgánico persistente y disruptor endocrino) [145]. Por otro lado, la nutria desapareció de los ríos contaminados por DDT de Inglaterra [145]. En los años 60, estudios sobre PCBs mostraron que las hembras de visones o no parían o perdían a sus crías [145]. En los años 70 se observó que la gran mayoría de los polluelos de gaviotas argénteas morían dentro del huevo y presentaban malformaciones graves y que la gaviota occidental sufría de intersexualidad [145], los efectos eran muy similares a aquellos pollos que estaban contaminados con dioxinas [145]. En los años 80, se descubrió que la disminución de la población de caimanes era producida porque solo el 18% de sus puestas eran viables y de estas la mitad de las crías morían antes de 10 días [145]. Además, el 60% de los machos presentaban penes anormalmente pequeños y las hembras adolescentes presentaban deformaciones en los ovarios y su nivel de estrógeno en sangre era anormalmente altos esto se debió a una exposición a plaguicidas debido a una fuga que hubo en una industria cercana [145]. En 1988

se produjo una reducción de la población de la foca debido a una enfermedad que no se producía en mares menos contaminados. En España, a principios de los 90 se produjo una elevada mortalidad de delfines debido a una infección. En la autopsia de los delfines se descubrió que todos tenían una mayor concentración de EDC en el organismo [24, 145].

El efecto más estudiado es su impacto sobre la reproducción de los organismos acuáticos, por ejemplo, diferentes estudios [146, 147], han estudiado la biomasa reproductiva de los peces del pacífico y han descubierto que los organismos acuáticos se habían disminuido un 65% con respecto a datos históricos e incluso algunas especies se habían reducido hasta un 80%. Al principio, la culpa de este deterioro recaía sobre la sobreexplotación y la pérdida de hábitat, pero con la llegada de los estudios de campo y de laboratorio, se demostró que los compuestos orgánicos de origen antrópico también tienen culpa de la desaparición de la biodiversidad. La biodiversidad se entiende como, no solo, la diversidad de especies vegetales y animales que viven en un espacio determinado, sino que, también, es la diferenciación genética existente entre ellos.

Sin embargo, los EDC no afectan solo al medio ambiente. Esto se debe a que una de las características más representativas en la gran mayoría de los EDC es la biomagnificación y bioacumulación, por lo tanto, se acumulan en la cadena trófica y aumenta su concentración cuanto más arriba de esta estén. Esto quiere decir que, el impacto que pueden llegar a tener los EDC en el medioambiente tiene mayor importancia de la que se le da y que puede, incluso, convertirse en un impacto para salud humana. Puede provocar cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades de etiología autorreactiva, endometriosis, afectar la calidad de los espermatozoides, deformaciones en el aparato reproductor femenino e, incluso, investigaciones más recientes demostraron una posible relación entre una exposición a BPA y una alta probabilidad de infección por COVID-19 [148-152].

Con respecto a los organismos acuáticos, la mayoría de los experimentos realizados de los diferentes EDC mencionados en este trabajo fueron realizados a nivel de laboratorio y solo determinaron los efectos sobre el organismo sin considerar los demás factores estresantes que se pueden encontrar en el nicho ecológico: depredación, parasitismos, infecciones, etc. Por lo tanto, estos efectos, aunque hay algunos estudios que sí han tenido en cuenta uno de los componentes estresantes como el parasitismo, solo tendrían en cuenta los efectos biológicos hacia el organismo [31]. Por lo tanto, los datos obtenidos hacen referencia solo a un EDC, a nivel de laboratorio, pero no son los datos que alcanzaría en su estado natural puesto que no los exponemos a los demás componentes estresantes que se pueden encontrar en su nicho. ¿Esto quiere decir que estos efectos son erróneos? No, siempre y cuando tu objetivo sea la búsqueda de los efectos de los compuestos químicos en los

organismos acuáticos y no su comportamiento en el medio ambiente y sus efectos sobre este mismo. Sin embargo, independientemente de lo mencionado anteriormente, también se han producido trabajos de campo y por ello se han dado más importancia a los EDC en los últimos años [31].

Una enfermedad vírica, es aquella que es producida por un virus. Para poder producirla deben superar las barreras protectoras del organismo y evitar el control inmunológico del organismo [153]. Como hemos podido ver en los resultados de los estudios los EDC tienen diferentes efectos sobre el sistema inmunológico de los peces y, además, afectan a la susceptibilidad de coger alguna enfermedad. En conclusión, se puede afirmar que existe una relación entre la exposición a diferentes EDCs y la modulación del sistema inmune, y la aparición de enfermedades víricas en peces.

6. CONCLUSIÓN Y PROYECCIONES FUTURAS

Viendo los resultados de los estudios analizados podemos decir que los EDCs afectarán a la ecología de la especie, disminuyendo su competitividad, y si los expusiéramos a los demás caracteres estresantes que se puede encontrar en el medioambiente podría llevar a la extinción de la especie

En los últimos años se ha producido una extinción masiva de seres vivos en la tierra, hoy en día hay 5200 especies en peligro de extinción, entre los que están incluidos los animales acuáticos. A lo largo de todo el trabajo hemos visto que los EDC tienen diferentes impactos (algunos más estudiados que otros) sobre la fisiología de los organismos acuáticos. Muchos científicos determinan que nos acercamos al punto de no retorno, pero todavía estamos a tiempo de hacer cambios en nuestra forma de vida que resulte de una disminución del uso de los EDC y de no lograrse esta reducción de compuestos contaminantes la biodiversidad acuática se vería gravemente afectada hasta tal punto que quedaría reducida de manera irreversible. En resumidas cuentas, se puede afirmar que los EDC tienen un efecto dañino sobre el organismo pero que a falta de datos suficientes de las especies expuestas y de su comportamiento hacia el estrés que se puede encontrar en su nicho todas aquellas tendencias en el futuro serán una hipótesis. Por lo tanto, es necesario: A. La realización de diferentes estudios para encontrar una sustancia que no sea tan dañina para el medioambiente como los EDC pero que tengan la misma función. B. Habría que estudiar una forma de eliminar los EDC ya existentes en los diferentes compartimientos del medioambiente y de esta forma reducir el estrés a los que se ven sometidas las especies.

Para terminar, diremos que los EDC también tienen efecto sobre la diversidad genética de los organismos. Tenemos estudios, como el de Palstra [154], que afirma que contaminantes que

son parecidos a las dioxinas perjudican gravemente a la reproducción de las anguilas y afecta a la continuidad de la especie. Otro ejemplo que encontramos es el experimento realizado por Pestana [155] que afirmaba que los contaminantes ambientales, más concretamente los EDC, se asocian directamente con la destrucción y/o fragmentación del hábitat, lo que conlleva el aislamiento de la población, la endogamia y la reducción de la diversidad genética. Por lo tanto, sí, los EDC están relacionados con la pérdida de biodiversidad acuática [65]

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Sendra, M., et al., *Surgical face masks as a source of emergent pollutants in aquatic systems: Analysis of their degradation product effects in Danio rerio through RNA-Seq*. J Hazard Mater, 2022. **428**: p. 128186.
2. Maciuszek, M., et al., *17 α -ethinylestradiol and 4-tert-octylphenol concurrently disrupt the immune response of common carp*. Fish Shellfish Immunol, 2020. **107**(Pt A): p. 238-250.
3. Hotchkiss, A.K., et al., *Fifteen years after "Wingspread"--environmental endocrine disruptors and human and wildlife health: where we are today and where we need to go*. Toxicol Sci, 2008. **105**(2): p. 235-59.
4. Grignard, E., H. Håkansson, and S. Munn, *Regulatory needs and activities to address the retinoid system in the context of endocrine disruption: The European viewpoint*. Reproductive Toxicology, 2020. **93**: p. 250-258.
5. Soto, A.M., C.M. Schaeberle, and C. Sonnenschein, *From Wingspread to CLARITY: a personal trajectory*. Nat Rev Endocrinol, 2021. **17**(4): p. 247-256.
6. Solecki, R., et al., *Scientific principles for the identification of endocrine-disrupting chemicals: a consensus statement*. Arch Toxicol, 2017. **91**(2): p. 1001-1006.
7. Sweeney, M.F., et al., *Environmental endocrine disruptors: Effects on the human male reproductive system*. Rev Endocr Metab Disord, 2015. **16**(4): p. 341-57.
8. La Merrill, M.A., et al., *Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification*. Nature Reviews Endocrinology, 2020. **16**(1): p. 45-57.
9. Diamanti-Kandarakis, E., et al., *Endocrine-Disrupting Chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement*. Endocrine Reviews, 2009. **30**(4): p. 293-342.
10. Wadzinski, T.L., et al., *Luteoma of pregnancy associated with nearly complete virilization of genetically female twins*. Endocrine Practice, 2014. **20**(2): p. e18-e23.
11. Lee, H.R., et al., *Molecular mechanism (s) of endocrine-disrupting chemicals and their potent oestrogenicity in diverse cells and tissues that express oestrogen receptors*. Journal of cellular and molecular medicine, 2013. **17**(1): p. 1-11.
12. Legler, J., et al., *Comparison of in vivo and in vitro reporter gene assays for short-term screening of estrogenic activity*. Environmental science & technology, 2002. **36**(20): p. 4410-4415.
13. Dees, C., et al., *Estrogenic and DNA-damaging activity of Red No. 3 in human breast cancer cells*. Environmental Health Perspectives, 1997. **105**(suppl 3): p. 625-632.
14. Munier, M., et al., *In vitro effects of the endocrine disruptor p, p'-DDT on human follitropin receptor*. Environmental Health Perspectives, 2016. **124**(7): p. 991-999.
15. You, S.-H., et al., *4-Hydroxy-PCB106 acts as a direct thyroid hormone receptor agonist in rat GH3 cells*. Molecular and cellular endocrinology, 2006. **257**: p. 26-34.
16. Gore, A.C., et al., *EDC-2: the Endocrine Society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals*. Endocrine reviews, 2015. **36**(6): p. E1-E150.
17. Yangthara, B., et al., *Small-molecule vasopressin-2 receptor antagonist identified by a G-protein coupled receptor "pathway" screen*. Molecular pharmacology, 2007. **72**(1): p. 86-94.

18. Henry, N.Y., et al., *Discovery of substituted benzamides as follicle stimulating hormone receptor allosteric modulators*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2014. **24**(9): p. 2168-2172.
19. Wacker, D., R.C. Stevens, and B.L. Roth, *How ligands illuminate GPCR molecular pharmacology*. *Cell*, 2017. **170**(3): p. 414-427.
20. Schrader, T.J. and G.M. Cooke, *Examination of selected food additives and organochlorine food contaminants for androgenic activity in vitro*. *Toxicological Sciences*, 2000. **53**(2): p. 278-288.
21. Kelce, W.R., et al., *Persistent DDT metabolite p, p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist*. *Nature*, 1995. **375**(6532): p. 581-585.
22. Gray, L., et al., *Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals* *Hum Reprod Update* **7**: 248–264. Find this article online, 2001.
23. Masuyama, H. and Y. Hiramatsu, *Involvement of suppressor for Gal 1 in the ubiquitin/proteasome-mediated degradation of estrogen receptors*. *Journal of Biological Chemistry*, 2004. **279**(13): p. 12020-12026.
24. Patisaul, H.B., *Endocrine disruption of vasopressin systems and related behaviors*. *Frontiers in endocrinology*, 2017. **8**: p. 134.
25. Martinez-Arguelles, D., et al., *In utero exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate decreases mineralocorticoid receptor expression in the adult testis*. *Endocrinology*, 2009. **150**(12): p. 5575-5585.
26. Ge, R.-S., et al., *Stimulation of testosterone production in rat Leydig cells by aldosterone is mineralocorticoid receptor mediated*. *Molecular and cellular endocrinology*, 2005. **243**(1-2): p. 35-42.
27. Cao, J., et al., *Neonatal Bisphenol A exposure alters sexually dimorphic gene expression in the postnatal rat hypothalamus*. *Neurotoxicology*, 2012. **33**(1): p. 23-36.
28. Alonso-Magdalena, P., et al., *Low doses of bisphenol A and diethylstilbestrol impair Ca²⁺ signals in pancreatic α -cells through a nonclassical membrane estrogen receptor within intact islets of Langerhans*. *Environmental health perspectives*, 2005. **113**(8): p. 969-977.
29. Rehfeld, A., et al., *EDC IMPACT: Chemical UV filters can affect human sperm function in a progesterone-like manner*. *Endocrine connections*, 2018. **7**(1): p. 16.
30. Sargis, R.M., et al., *The novel endocrine disruptor tolylfluanid impairs insulin signaling in primary rodent and human adipocytes through a reduction in insulin receptor substrate-1 levels*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2012. **1822**(6): p. 952-960.
31. Jansen, M.S., et al., *Short-chain fatty acids enhance nuclear receptor activity through mitogen-activated protein kinase activation and histone deacetylase inhibition*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004. **101**(18): p. 7199-7204.
32. Zama, A.M. and M. Uzumcu, *Fetal and neonatal exposure to the endocrine disruptor methoxychlor causes epigenetic alterations in adult ovarian genes*. *Endocrinology*, 2009. **150**(10): p. 4681-4691.
33. Singh, S. and S.S.-L. Li, *Epigenetic effects of environmental chemicals bisphenol A and phthalates*. *International journal of molecular sciences*, 2012. **13**(8): p. 10143-10153.
34. Wolff, J., *Perchlorate and the thyroid gland*. *Pharmacological reviews*, 1998. **50**(1): p. 89-106.
35. Parks, L.G., et al., *The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat*. *Toxicological sciences*, 2000. **58**(2): p. 339-349.
36. Mylchreest, E., et al., *Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di (n-butyl) phthalate*. *Reproductive Toxicology*, 2002. **16**(1): p. 19-28.
37. Jin, Y., L. Wang, and Z. Fu, *Oral exposure to atrazine modulates hormone synthesis and the transcription of steroidogenic genes in male peripubertal mice*. *General and comparative endocrinology*, 2013. **184**: p. 120-127.

38. Caron-Beaudoin, É., R. Viau, and J.T. Sanderson, *Effects of neonicotinoid pesticides on promoter-specific aromatase (CYP19) expression in Hs578t breast cancer cells and the role of the VEGF pathway*. Environmental Health Perspectives, 2018. **126**(4): p. 047014.
39. Villar-Pazos, S., et al., *Molecular mechanisms involved in the non-monotonic effect of bisphenol-a on Ca²⁺ entry in mouse pancreatic β -cells*. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 11770.
40. Jakobsen, P., P. Madsen, and H. Andersen, *Imidazolines as efficacious glucose-dependent stimulators of insulin secretion*. European journal of medicinal chemistry, 2003. **38**(4): p. 357-362.
41. Lindhe, O., et al., *Irreversible binding and adrenocorticolytic activity of the DDT metabolite 3-methylsulfonyl-DDE examined in tissue-slice culture*. Environmental Health Perspectives, 2001. **109**(2): p. 105-110.
42. Zhang, Y., et al., *Effect of low-dose malathion on the gonadal development of adult rare minnow *Gobiocypris rarus**. Ecotoxicology and environmental safety, 2016. **125**: p. 135-140.
43. BRUCKER-DAVIS, F., *Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function*. Thyroid, 1998. **8**(9): p. 827-856.
44. Kester, M.H., et al., *Potent inhibition of estrogen sulfotransferase by hydroxylated PCB metabolites: a novel pathway explaining the estrogenic activity of PCBs*. Endocrinology, 2000. **141**(5): p. 1897-1900.
45. Zhou, J., et al., *Triazole fungicide tebuconazole disrupts human placental trophoblast cell functions*. J Hazard Mater, 2016. **308**: p. 294-302.
46. Dickerson, S.M., et al., *Endocrine disruption of brain sexual differentiation by developmental PCB exposure*. Endocrinology, 2011. **152**(2): p. 581-94.
47. LaPlante, C.D., et al., *Oxybenzone Alters Mammary Gland Morphology in Mice Exposed During Pregnancy and Lactation*. J Endocr Soc, 2018. **2**(8): p. 903-921.
48. Bansal, R. and R.T. Zoeller, *Polychlorinated biphenyls (Aroclor 1254) do not uniformly produce agonist actions on thyroid hormone responses in the developing rat brain*. Endocrinology, 2008. **149**(8): p. 4001-8.
49. Toivanen, R. and M.M. Shen, *Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification*. Development, 2017. **144**(8): p. 1382-1398.
50. Phelps, D.W., et al., *Legacy and emerging per- and polyfluoroalkyl substances suppress the neutrophil respiratory burst*. Journal of Immunotoxicology, 2023. **20**(1): p. 2176953.
51. Hu, X.C., et al., *Detection of poly-and perfluoroalkyl substances (PFASs) in US drinking water linked to industrial sites, military fire training areas, and wastewater treatment plants*. Environmental science & technology letters, 2016. **3**(10): p. 344-350.
52. Fernández, M.F., B. Olmos, and N. Olea, *Exposición a disruptores endocrinos y alteraciones del tracto urogenital masculino (criptorquidia e hipospadias)*. Gaceta Sanitaria, 2007. **21**: p. 500-514.
53. Caliman, F.A. and M. Gavrilesco, *Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment – A Review*. CLEAN – Soil, Air, Water, 2009. **37**(4-5): p. 277-303.
54. Porte, C., et al., *Endocrine disruptors in marine organisms: approaches and perspectives*. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2006. **143**(3): p. 303-15.
55. Shved, N., et al., *Challenge with 17 α -ethinylestradiol (EE2) during early development persistently impairs growth, differentiation, and local expression of IGF-I and IGF-II in immune organs of tilapia*. Fish Shellfish Immunol, 2009. **26**(3): p. 524-30.
56. Nilsson, R., *Endocrine modulators in the food chain and environment*. Toxicol Pathol, 2000. **28**(3): p. 420-31.
57. Muncke, J., *Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain: Is packaging a relevant source?* Sci Total Environ, 2009. **407**(16): p. 4549-59.
58. Tyler, C.R. and S. Jobling, *Roach, Sex, and Gender-Bending Chemicals: The Feminization of Wild Fish in English Rivers*. BioScience, 2008. **58**(11): p. 1051-1059.

59. Wang, R. and M. Belosevic, *Estradiol increases susceptibility of goldfish to Trypanosoma danilewskyi*. Dev Comp Immunol, 1994. **18**(5): p. 377-87.
60. Szwejsner, E., et al., *A role for multiple estrogen receptors in immune regulation of common carp*. Dev Comp Immunol, 2017. **66**: p. 61-72.
61. López-Muñoz, A., et al., *Estrogen receptor 2b deficiency impairs the antiviral response of zebrafish*. Dev Comp Immunol, 2015. **53**(1): p. 55-62.
62. Nasri, A., et al., *Ethinylestradiol (EE2) residues from birth control pills impair nervous system development and swimming behavior of zebrafish larvae*. Sci Total Environ, 2021. **770**: p. 145272.
63. Lopes, J., et al., *How temperature rise will influence the toxic impacts of 17 α -ethinylestradiol in Mytilus galloprovincialis?* Environ Res, 2022. **204**(Pt C): p. 112279.
64. Tato, T., et al., *Ecotoxicological evaluation of the risk posed by bisphenol A, triclosan, and 4-nonylphenol in coastal waters using early life stages of marine organisms (Isochrysis galbana, Mytilus galloprovincialis, Paracentrotus lividus, and Acartia clausi)*. Environ Pollut, 2018. **232**: p. 173-182.
65. Zhou, J., Z.H. Cai, and X.S. Zhu, *Are endocrine disruptors among the causes of the deterioration of aquatic biodiversity?* Integr Environ Assess Manag, 2010. **6**(3): p. 492-8.
66. Soares, A., et al., *Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters*. Environ Int, 2008. **34**(7): p. 1033-49.
67. Canesi, L., et al., *Environmental estrogens can affect the function of mussel hemocytes through rapid modulation of kinase pathways*. Gen Comp Endocrinol, 2004. **138**(1): p. 58-69.
68. Huang, Y.Q., et al., *Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts*. Environ Int, 2012. **42**: p. 91-9.
69. Vandenberg, L.N., et al., *Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption*. Endocr Rev, 2009. **30**(1): p. 75-95.
70. Keri, R.A., et al., *An evaluation of evidence for the carcinogenic activity of bisphenol A*. Reprod Toxicol, 2007. **24**(2): p. 240-52.
71. Richter, C.A., et al., *In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies*. Reprod Toxicol, 2007. **24**(2): p. 199-224.
72. Tayama, S., Y. Nakagawa, and K. Tayama, *Genotoxic effects of environmental estrogen-like compounds in CHO-K1 cells*. Mutat Res, 2008. **649**(1-2): p. 114-25.
73. Carpenter, S.R., E.H. Stanley, and M.J. Vander Zanden, *State of the world's freshwater ecosystems: physical, chemical, and biological changes*. Annual review of Environment and Resources, 2011. **36**: p. 75-99.
74. Enane, N.A., et al., *Biological markers of macrophage activation: applications for fish phagocytes*. Immunology, 1993. **80**(1): p. 68-72.
75. <El sistema inmune de los teleosteos__Aquatic.pdf>.
76. López-Muñoz, A., et al., *Estrogen receptor 2b deficiency impairs the antiviral response of zebrafish*. Developmental & Comparative Immunology, 2015. **53**(1): p. 55-62.
77. Ziv-Gal, A., et al., *Bisphenol A inhibits cultured mouse ovarian follicle growth partially via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway*. Reproductive toxicology, 2013. **42**: p. 58-67.
78. Williams, T.D., et al., *Gene expression responses of European flounder (Platichthys flesus) to 17- β estradiol*. Toxicology letters, 2007. **168**(3): p. 236-248.
79. Baldwin, W.S., et al., *Effects of nonylphenol on hepatic testosterone metabolism and the expression of acute phase proteins in winter flounder (Pleuronectes americanus): Comparison to the effects of Saint John's Wort*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2005. **140**(1): p. 87-96.
80. Maule, A.G., et al., *Aroclor 1254 exposure reduces disease resistance and innate immune responses in fasted Arctic charr*. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, 2005. **24**(1): p. 117-124.

81. Moens, L.N., et al., *Expression profiling of endocrine-disrupting compounds using a customized Cyprinus carpio cDNA microarray*. Toxicological Sciences, 2006. **93**(2): p. 298-310.
82. Vandenberg, L.N., et al., *Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption*. Endocrine reviews, 2009. **30**(1): p. 75-95.
83. Hou, Y. and X. Han, *Effects of estradiol-17beta on immunocompetence in rainbow trout*. Acta Zool Sin, 2001. **47**: p. 285-291.
84. Hou, Y., Y. Suzuki, and K. Aida, *Effects of steroids on the antibody producing activity of lymphocytes in rainbow trout*. Fisheries science, 1999. **65**(6): p. 850-855.
85. Thilagam, H., et al., *Effect of 17β-estradiol on the immunocompetence of japanese sea bass (Lateolabrax Japonicus)*. Environmental Toxicology and Chemistry, 2009. **28**(8): p. 1722-1731.
86. Rice, C.D. and D. Schlenk, *Immune function and cytochrome P4501A activity after acute exposure to 3, 3', 4, 4', 5-pentachlorobiphenyl (PCB 126) in channel catfish*. Journal of Aquatic Animal Health, 1995. **7**(3): p. 195-204.
87. Falk, H., R.D. Negele, and R. Goerlich, *Phagocytosis activity as an in vitro test for the effects of chronic exposure of rainbow trout to Linuron, a herbicide*. Journal of applied ichthyology, 1990. **6**(4): p. 231-236.
88. Milla, S., S. Depiereux, and P. Kestemont, *The effects of estrogenic and androgenic endocrine disruptors on the immune system of fish: a review*. Ecotoxicology, 2011. **20**(2): p. 305-19.
89. <El sistema inmune de los teleosteos_III_Aquatic.pdf>.
90. Rees Clayton, E.M., et al., *The impact of bisphenol A and triclosan on immune parameters in the US population, NHANES 2003–2006*. Environmental health perspectives, 2011. **119**(3): p. 390-396.
91. Deane, E.E., J. Li, and N.Y. Woo, *Hormonal status and phagocytic activity in sea bream infected with vibriosis*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2001. **129**(2-3): p. 687-693.
92. Rice, C. and Y. Xiang, *Immune function, hepatic CYP1A, and reproductive biomarker responses in the gulf killifish, Fundulus grandis, during dietary exposures to endocrine disruptors*. Marine Environmental Research, 2000. **50**(1-5): p. 163-168.
93. Iwanowicz, L.R., et al., *Aroclor 1248 exposure leads to immunomodulation, decreased disease resistance and endocrine disruption in the brown bullhead, Ameiurus nebulosus*. Aquatic toxicology, 2009. **93**(1): p. 70-82.
94. MacGillivray, D.M. and T.R. Kollmann, *The role of environmental factors in modulating immune responses in early life*. Frontiers in immunology, 2014. **5**: p. 434.
95. Yang, C., W. Lim, and G. Song, *Immunotoxicological effects of insecticides in exposed fishes*. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2021. **247**: p. 109064.
96. Takashima, F. and T. Hibiya, *An atlas of fish histology : normal and pathological features*. 2nd ed ed. 1994, Tokyo, Stuttgart: Kodansha Ltd. ; Gustav Fischer [distributor] Tokyo, Stuttgart.
97. Campbell, T.W. and F. Murru, *An introduction to fish hematology*. Compendium on Continuing Education for The Practicing Veterinarian, 1990. **12**: p. 525-532.
98. Krasnov, A., et al., *Sexual maturation and administration of 17β-estradiol and testosterone induce complex gene expression changes in skin and increase resistance of Atlantic salmon to ectoparasite salmon louse*. General and Comparative Endocrinology, 2015. **212**: p. 34-43.
99. Macnab, V., et al., *Oestrogenic pollutants promote the growth of a parasite in male sticklebacks*. Aquatic Toxicology, 2016. **174**: p. 92-100.
100. Thilagam, H., et al., *Effect of 17beta-estradiol on the immunocompetence of Japanese sea bass (Lateolabrax japonicus)*. Environ Toxicol Chem, 2009. **28**(8): p. 1722-31.
101. Wang, R. and M. Belosevic, *Estradiol increases susceptibility of goldfish to Trypanosoma danilewskyi*. Developmental & Comparative Immunology, 1994. **18**(5): p. 377-387.

102. Suzuki, Y., et al., *Reproduction related immunoglobulin changes in rainbow trout*. Fish Physiology and Biochemistry, 1997. **17**(1): p. 415-421.
103. Cuesta, A., et al., *Effect of sex-steroid hormones, testosterone and estradiol, on humoral immune parameters of gilthead seabream*. Fish & Shellfish Immunology, 2007. **23**(3): p. 693-700.
104. Schwaiger, J., et al., *Chronic toxicity of nonylphenol and ethinylestradiol: haematological and histopathological effects in juvenile Common carp (Cyprinus carpio)*. Aquatic toxicology, 2000. **51**(1): p. 69-78.
105. Yin, D.-q., et al., *Immunotoxicity of bisphenol A to Carassius auratus lymphocytes and macrophages following in vitro exposure*. Journal of environmental sciences, 2007. **19**(2): p. 232-237.
106. Slater, C.H. and C.B. Schreck, *Physiological levels of testosterone kill salmonid leukocytes in vitro*. General and Comparative Endocrinology, 1997. **106**(1): p. 113-119.
107. Peden-Adams, M.M., et al., *Suppression of humoral immunity following exposure to the perfluorinated insecticide sulfluramid*. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 2007. **70**(13): p. 1130-1141.
108. Kovats, S., *Estrogen receptors regulate innate immune cells and signaling pathways*. Cellular immunology, 2015. **294**(2): p. 63-69.
109. Cabas, I., et al., *Role of estrogens in fish immunity with special emphasis on GPER1*. Developmental & Comparative Immunology, 2018. **89**: p. 102-110.
110. Segner, H., et al., *Impact of environmental estrogens on fish considering the diversity of estrogen signaling*. General and comparative endocrinology, 2013. **191**: p. 190-201.
111. Lozano, N., et al., *Concentration of organic contaminants in fish and their biological effects in a wastewater-dominated urban stream*. Science of the total environment, 2012. **420**: p. 191-201.
112. Kloas, W., et al., *Endocrine disruption in aquatic vertebrates*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2009. **1163**(1): p. 187-200.
113. Lavado, R., et al., *First evidence of endocrine disruption in feral carp from the Ebro River*. Toxicology and applied pharmacology, 2004. **196**(2): p. 247-257.
114. Purdom, C., et al., *Estrogenic effects of effluents from sewage treatment works*. Chemistry and Ecology, 1994. **8**(4): p. 275-285.
115. Bahamonde, P.A., K.R. Munkittrick, and C.J. Martyniuk, *Intersex in teleost fish: are we distinguishing endocrine disruption from natural phenomena?* Gen Comp Endocrinol, 2013. **192**: p. 25-35.
116. <Moher 2009 reporting items systematic reviews.PDF>.
117. Zwejser, E., et al., *A role for multiple estrogen receptors in immune regulation of common carp*. Developmental & Comparative Immunology, 2017. **66**: p. 61-72.
118. Watanuki, H., T. Yamaguchi, and M. Sakai, *Suppression in function of phagocytic cells in common carp Cyprinus carpio L. injected with estradiol, progesterone or 11-ketotestosterone*. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002. **132**(4): p. 407-413.
119. Chaves-Pozo, E., et al., *17Beta-estradiol triggers postspawning in spermatogenically active gilthead seabream (Sparus aurata L.) males*. Biology of Reproduction, 2007. **76**(1): p. 142-148.
120. Villarrubia, N., F. León, and A. Bootello, *Los linfocitos T $\gamma\delta$ y su papel en procesos de hipersensibilidad en la mucosa digestiva y respiratoria*. Allergologia et Immunopathologia, 2002. **30**(5): p. 273-282.
121. Socorro, S., et al., *Two estrogen receptors expressed in the teleost fish, Sparus aurata: cDNA cloning, characterization and tissue distribution*. Journal of Endocrinology, 2000. **166**(2): p. 293-306.
122. Cabas, I., et al., *17 α -Ethinylestradiol alters the immune response of the teleost gilthead seabream (Sparus aurata L.) both in vivo and in vitro*. Developmental & Comparative Immunology, 2012. **36**(3): p. 547-556.

123. Rehberger, K., et al., *Long-term exposure to low 17 α -ethinylestradiol (EE2) concentrations disrupts both the reproductive and the immune system of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss**. *Environment International*, 2020. **142**: p. 105836.
124. Bailey, C., et al., *Who needs the hotspot? The effect of temperature on the fish host immune response to *Tetracapsuloides bryosalmonae* the causative agent of proliferative kidney disease*. *Fish & shellfish immunology*, 2017. **63**: p. 424-437.
125. Matozzo, V. and M.G. Marin, *4-Nonylphenol induces immunomodulation and apoptotic events in the clam *Tapes philippinarum**. *Marine Ecology Progress Series*, 2005. **285**: p. 97-106.
126. Nice, H., et al., *Development of *Crassostrea gigas* larvae is affected by 4-nonylphenol*. *Marine Pollution Bulletin*, 2000. **40**(6): p. 491-496.
127. Nice, H.E., et al., *Long-term and transgenerational effects of nonylphenol exposure at a key stage in the development of *Crassostrea gigas*. Possible endocrine disruption?* *Marine Ecology Progress Series*, 2003. **256**: p. 293-300.
128. Zhang, Y., et al., *Bisphenol A regulates rare minnow testicular vitellogenin expression via reducing its promoter *Er* recruitment*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2018. **147**: p. 423-429.
129. Wetherill, Y.B., et al., *Xenoestrogen action in prostate cancer: pleiotropic effects dependent on androgen receptor status*. *Cancer research*, 2005. **65**(1): p. 54-65.
130. Iso, T., et al., *DNA damage caused by bisphenol A and estradiol through estrogenic activity*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2006. **29**(2): p. 206-210.
131. Yoshino, S., et al., *Prenatal exposure to bisphenol A up-regulates immune responses, including T helper 1 and T helper 2 responses, in mice*. *Immunology*, 2004. **112**(3): p. 489-495.
132. Dong, X., et al., *Parental exposure to bisphenol A and its analogs influences zebrafish offspring immunity*. *Sci Total Environ*, 2018. **610-611**: p. 291-297.
133. Pecquet, A.M., et al., *Exposure to perfluorooctanoic acid (PFOA) decreases neutrophil migration response to injury in zebrafish embryos*. *BMC Research Notes*, 2020. **13**: p. 1-6.
134. Dunier, M. and A.K. Siwicki, *Effects of lindane exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) immunity: I. Effect of lindane on antibody-secreting cells (ASC) measured by ELISPOT assay*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1994. **27**(1): p. 1-6.
135. Yada, T. and T. Nakanishi, *Interaction between endocrine and immune systems in fish*. *International review of cytology*, 2002. **220**: p. 35-92.
136. Magor, B.G. and K.E. Magor, *Evolution of effectors and receptors of innate immunity*. *Developmental & Comparative Immunology*, 2001. **25**(8-9): p. 651-682.
137. Zhou, J., Z.H. Cai, and X.S. Zhu, *Are endocrine disruptors among the causes of the deterioration of aquatic biodiversity?* *Integrated environmental assessment and management*, 2010. **6**(3): p. 492-498.
138. Czech, P., K. Weber, and D.R. Dietrich, *Effects of endocrine modulating substances on reproduction in the hermaphroditic snail *Lymnaea stagnalis* L*. *Aquatic Toxicology*, 2001. **53**(2): p. 103-114.
139. Richter, C.A., et al., *In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies*. *Reproductive toxicology*, 2007. **24**(2): p. 199-224.
140. Shen, H., et al., *Effect of PFOA exposure on diminished ovarian reserve and its metabolism*. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2023. **21**(1): p. 16.
141. Hart, C.E., et al., *Effect of 4-nonylphenol on the immune response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* following bacterial infection with *Vibrio campbellii**. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016. **58**: p. 449-461.
142. Cabaton, N.J., et al., *Perinatal exposure to environmentally relevant levels of bisphenol A decreases fertility and fecundity in CD-1 mice*. *Environmental health perspectives*, 2011. **119**(4): p. 547-552.

143. Wang, Q., et al., *Toxic effects of bisphenol A on goldfish gonad development and the possible pathway of BPA disturbance in female and male fish reproduction*. Chemosphere, 2019. **221**: p. 235-245.
144. Zhang, H., et al., *Perfluorooctanoic acid-induced immunotoxicity via NF-kappa B pathway in zebrafish (Danio rerio) kidney*. Fish & Shellfish Immunology, 2021. **113**: p. 9-19.
145. <DISRUPTORES ENDOCRINOS. Nuevas respuestas para nuevos retos.pdf>.
146. Mills, L.J. and C. Chichester, *Review of evidence: are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations?* Science of the total environment, 2005. **343**(1-3): p. 1-34.
147. Reynolds, J.D., et al., *Biology of extinction risk in marine fishes*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2005. **272**(1579): p. 2337-2344.
148. Di Pietro, G., F. Forcucci, and F. Chiarelli, *Endocrine Disruptor Chemicals and Children's Health*. Int J Mol Sci, 2023. **24**(3).
149. Costas, L., et al., *Occupational exposure to endocrine disruptors and lymphoma risk in a multi-centric European study*. Br J Cancer, 2015. **112**(7): p. 1251-6.
150. Popescu, M., T.B. Feldman, and T. Chitnis, *Interplay Between Endocrine Disruptors and Immunity: Implications for Diseases of Autoreactive Etiology*. Front Pharmacol, 2021. **12**: p. 626107.
151. Phillips, K.P. and N. Tanphaichitr, *Human exposure to endocrine disrupters and semen quality*. J Toxicol Environ Health B Crit Rev, 2008. **11**(3-4): p. 188-220.
152. Costa, E.M., et al., *Effects of endocrine disruptors in the development of the female reproductive tract*. Arq Bras Endocrinol Metabol, 2014. **58**(2): p. 153-61.
153. Galán-Sánchez, F., C. Fernández-Gutiérrez Del Álamo, and M. Rodríguez-Iglesias, *[Viral infections]*. Medicine (Madr), 2014. **11**(49): p. 2885-2892.
154. Palstra, A., et al., *Are dioxin-like contaminants responsible for the eel (Anguilla anguilla) drama?* Naturwissenschaften, 2006. **93**: p. 145-148.
155. Pestana, J., *Microevolutionary dynamics and genetic erosion in pollution-affected chironomus populations*. The PhD thesis, Department of Biology and Centre for Environmental and Marine Studies, University of Aveiro, Gelnhausen, Germany, 2009.