

**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE
COIMBRA**

Disruptores Endócrinos

Endocrine Disruptors

ARTIGO DE REVISÃO

Paula Isabel de São Pedro Soeiro¹, Maria Margarida dos Santos Antunes Catarino Bastos
Ferreira^{1,2}

¹Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

²Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo do Centro Hospitalar e Universitário de
Coimbra - Hospitais da Universidade de Coimbra, Portugal

e-mail: paulaspsoeiro@gmail.com

Índice

Abreviaturas e Glossário	3
Resumo.....	7
Abstract	7
Introdução.....	8
Materiais e Métodos	10
Resultados	12
1.EDs: Quem são?.....	12
2. EDs: Onde existem?	15
3. EDs: Exposição	19
4. EDs: Mecanismos de Ação e Efeitos. Transporte, Armazenamento e Eliminação.....	20
5. EDs: Efeitos na Saúde	33
Discussão.....	45
Conclusão.....	53
Agradecimentos.....	54
Referências	54

Abreviaturas e Glossário

4-MBC	<i>Metilbenzilideno</i> . Filtro UV.
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AhR:	Receptor do hidrocarboneto aromático.
AP-A:	Proteína activadora A. Proteína reguladora de genes.
AR:	Receptor de Androgénio
BBP	<i>Benzylbutylphthalate</i>
BIO A	<i>Biochanin A</i> . Isoflavonóide.
BP2	<i>Benzophenone 2</i> . UV filtro.
BP3	<i>Benzophenone 3</i> . UV filtro.
BPA:	<i>Bisphenol A</i> . Produto amplamente utilizado em produtos plásticos.
BPB	<i>Bisphenol B</i>
BPS	<i>Bisphenol S</i>
cAMP	Adenosina monofosfato cíclica
CAR	Receptor constitutivo da androstane.
COU	<i>Coumestrol</i> . Fitoestrogénio.
DBP	<i>Dibutyl phthalate</i> .
DDZ	<i>Daidzin</i> . Fitoestrogénio.
DDD:	<i>(1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane)</i> . Metabolito DDT.
DDE:	<i>Dichlorodipenyldichloroethylene</i> . Metabolito DDT.
DDT:	<i>1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane</i> . Pesticida.
DEHP:	<i>Bis(2-ethylhexyl) phthalate</i> . Ftalato.
DES:	<i>Diethylstilbestrol</i> . Fármaco usado para impedir o aborto.
E2:	17beta-estradiol

E3:	Estriol
ED(s):	Disruptor Endócrino(s) substância ou mistura de substâncias exógenas que altera a função ou funções do SE e, conseqüentemente, causa efeitos adversos na saúde de um organismo intacto ou nos seus descendentes ou (sub) populações
EE2:	17 α -etenilestradiol.
ER:	Receptor de estrogénio
ERE:	Elementos responsivos a estrogénios.
Ftalatos	Substâncias amplamente utilizadas como emolientes de plástico e aditivos.
GEN	<i>Genistein</i> . Fitoestrógeno.
GPR30:	Receptor transmembranar acoplado ás proteínas G.
HT	Hormona Tiróide
IMC	Índice de massa corporal.
MAC	<i>Octil-methoxycinnamate</i> . UV filtro.
mER	Receptores de estrogénio da membrana.
MEHP:	<i>Mono-2-ethyl-5-hydroxyhexyl phthalate</i> .
mRNA:	Ácido ribonucleico mensageiro.
NF κ B:	Factor nuclear kappa B. Proteina reguladora de genes.
NIAS	Substâncias adicionadas não intencionalmente.
NP:	<i>Nonylphenol</i> . Alquifenol.
OP:	<i>Octylphenol</i> . Alquifenol.
PAH	Hidrocarbonos Aromáticos Policíclicos
PBB	<i>Polybrominated biphenyls</i> . Retardante de chama.
PBDE	<i>Polybrominated diphenyl ethers</i> . Retardante de chama.

PCB	<i>Polychlorinated biphenyl</i> . Organoclorado.
Perclorato	Produto químico usado em munições, fogos-de-artifício e sistemas de airbag. Contaminante comum dos alimentos e água.
PFC	Produtos químicos perfluorados extremamente persistentes no meio ambiente que possuem propriedades de protecção de superfície. Utilizado para revestimento de materiais.
PFOA:	<i>Perfluorooctanoic acid</i> . POP.
PFOS	<i>Perfluorooctanesulfonic acid</i> . POP.
POP(s):	Poluente(s) orgânico(s) persistente(s).
PP:	<i>Propylphenol</i> . Alquífenol.
PPAR	Receptor do peroxissoma ativador da proliferação (PPAR)
p,p-DDE:	<i>1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene</i>
p,p-DDT:	<i>1,1,1-trichloro-2,2-bis(pchlorophenyl) ethane</i>
PR	Receptor de Progesterona
PTU	<i>Propylthiouracil</i> . Fármaco usado na doença de Graves.
PXR:	Receptor pregnane X
RAS:	Proteína transdutora de sinal. Codificada por um proto-oncogene,
RR	Receptores de retinóides.
SE	Sistema Endócrino.
Sp1:	Proteína específica 1. Proteína reguladora de genes.
Src:	Proteína de transdução do sinal da tirosina que pertence à família de quinases Src-quinase. Codificada por um proto-oncogene.
Src/Ras/Erk:	Vias de sinalização intracelular.
TEB	<i>Triethylborane</i>

TPO	Tireoperoxidase
TTR	Proteína transportadora transterritina
STAT(s)	Sinal de transdução e activador da transcrição. Proteína reguladora de gene.
T3	Triiodotironina.
T4	Tiroxina.
TBBPA	<i>Tetrabromobisphenol A</i> . Retardador da Chama.
TCDD	<i>2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina</i>
TDT	<i>Tributyltin</i> . Pesticida.
TR	Receptor das hormonas tiroideia
TSH:	Hormona estimulante da tiróide.
TTR:	Transterrina. Proteína transportadora de tiroxina.
UV:	Ultra – Violeta. Os filtros UV são utilizados em protectores solares, outros produtos cosméticos como cremes nocturnos rugas, mas também em materiais domésticos para preservar a coloração.
VZN	<i>Vinclozolin</i>

Resumo

As doenças endócrino-mediadas no ser humano estão a aumentar em todo mundo e pensa-se que os disruptores endócrinos (EDs) sejam a causa. Este artigo visa identificar os principais EDs, as suas fontes, mecanismos de exposição e atuação geral, assim como patologias com correlação cientificamente demonstrada, com destaque para o cancro da mama, obesidade e doenças da tiroide e ainda sumariar os conhecimentos sobre a realidade Portuguesa. Foi utilizada a base de dados *PubMed*, onde os artigos foram selecionados pela data de publicação, título e *abstract*. Foi também consultado o “Portal de Estatística de Saúde” da Direção Geral de Saúde. Os EDs atuam isoladamente ou em misturas e os seus efeitos são dependentes da dose, da espécie, das características genéticas do organismo, do sexo, do tecido, da idade do organismo e do tipo de exposição. Concluiu-se que os EDs causam doenças nos animais selvagens e têm potencial para aumentar a suscetibilidade para doenças no ser humanos. Existe uma forte relação entre a exposição a EDs e o cancro da mama e a obesidade. São, no entanto, necessários mais estudos referentes aos efeitos sobre a tiroide. Em Portugal esta área ainda está nos seus primórdios, mas existe evidência de disrupção endócrina em espécies selvagens. Portanto, o clínico deve apostar na educação dos seus doentes, sobretudo das populações mais suscetíveis, como as grávidas e as crianças.

Abstract

Endocrine-mediated diseases in human are increasing worldwide and endocrine disruptors (EDs) are pointed as the probable cause. This article aims to identify the main EDs, their sources, general mechanism of exposure and action, pathologies with proven scientific correlation, focusing on breast cancer, obesity and thyroid disease, and to summarize the knowledge about Portuguese reality. Articles used were obtained in the *PubMed* database and chosen by publication date, title and *abstract*. Furthermore, Portuguese statistics were

obtained in the Portuguese Directorate-General of Health website. EDs can act alone or in mixtures and their effects are dependent of the dose, species, genetic factors, sex, tissues, age and type of exposition. It was concluded that EDs cause disease in the wild animals and that they have the potential to increase the risk of disease in humans. There is a strong relationship between exposure to EDs and breast cancer and obesity. More studies are necessary to determine the effects on thyroid. In Portugal, although there are still few studies, there is evidence that wild animals are already suffering endocrine disruption. Therefore, doctors are advised to educate their patients, especially the most susceptible population, like pregnant woman's and children.

Palavras Chaves: Disruptores endócrinos, mecanismos, exposição, cancro da mama, obesidade, tiróide, Portugal

Keywords: Endocrine disruptors, mechanism, exposure, breast cancer, obesity, thyroid, Portugal

Introdução

O sistema endócrino (SE) é essencial para a saúde de humanos e animais¹. Através das várias hormonas, este é responsável pelo normal desenvolvimento do organismo (nomeadamente pela diferenciação celular durante a formação e maturação dos tecidos), manutenção das funções dos diferentes órgãos e tecidos, e pela reprodução^{1,39}. Todas as células do corpo são reguladas por hormonas, que podem ser péptidos/proteínas, lípidos ou derivados de aminoácidos que após a sua secreção atuam em recetores que causam reações dentro das respetivas células³⁴. Todas as células do corpo são reguladas por hormonas³⁴. Nos últimos 50 anos tem-se verificado um aumento da incidência de doenças/distúrbios

endócrino-mediados^{1,3}. A rápida velocidade deste aumento, não explicada por mecanismos genéticos nem pela maior taxa de diagnósticos^{1,3,19}, levantou a possibilidade de existirem fatores ambientais intervenientes^{1,3}. De entre eles, destacam-se as novas substâncias antropogénicas previamente inexistentes ou presentes em quantidades mínimas no planeta Terra, que possuem a capacidade de interferir com o SE^{1,2}.

Em 2002, um trabalho realizado no âmbito do Programa Internacional da Segurança de Químicos realizado em conjunto pela Organização Mundial de Saúde, Programa Ambiental das Nações Unidas e Organização Internacional do Trabalho concluiu que existiam indícios que certos químicos ambientais interfeririam com os processos hormonais e que os efeitos adversos endócrino-mediados destas substâncias já podiam ser observados em algumas espécies selvagens, sobretudo aquáticas, não havendo, no entanto, evidência de efeitos nefastos para a saúde humana^{4,16}. Neste mesmo trabalho foram definidos pela primeira vez os conceitos de Disruptores Endócrinos (ED) "substância ou mistura de substâncias exógenas que altera a função ou funções do SE e, conseqüentemente, causa efeitos adversos na saúde de um organismo intacto ou nos seus descendentes ou (sub) populações" ^{4,5} e de Potencial Disruptor Endócrino (PED) "substância ou mistura de substâncias exógenas que possuem propriedades que se podem esperar que conduzam à disrupção endócrina de um organismo intacto ou dos seus descendentes ou (sub) populações"⁴. Inúmeras definições foram desde então propostas, tendo as mais recentes sido emitidas pela Agência Europeia de Saúde Ambiental em 2012, que define EDs como "substâncias exógenas que causam efeitos adversos na saúde de um organismo intacto e sua descendência, resultantes de alterações na função endócrina" ⁵ e pela Agência de Saúde Ambiental dos EUA, que define EDs como "agentes exógenos que interferem com a produção, libertação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormonas naturais do corpo, responsáveis pela manutenção da homeostase e pela regulação dos processos de desenvolvimento"⁵. É importante verificar que

todas as definições internacionais estabelecem que um ED deve causar efeitos adversos num organismo intacto mediados pelo SE.

Múltiplos estudos foram realizados nesta área desde 2002, quer estudos epidemiológicos, quer estudos em animais e células humanas, existindo alguma evidência que a exposição a EDs pode desencadear o desenvolvimento de neoplasias, malformações congénitas e alterações na fertilidade¹. Estão a surgir dados que apontam para um envolvimento dos EDs em patologias tiroideias, cerebrais, imunológicas, assim como na obesidade e no metabolismo e na homeostase da insulina e da glucose^{1,2,3,16,30}. Deste modo, os EDs são, possivelmente, uma preocupação de saúde pública^{1,30}. Contudo, este tema é ainda alheio a muitos clínicos e a sua relevância para a prática clínica é ainda desconhecida. Atualmente em Portugal, não existem estudos que correlacionem o aumento da incidência das doenças endócrino-mediadas com os EDs em populações expostas.

Este artigo visa sintetizar o estado da arte dos EDs, mais concretamente, identificar os principais EDs, as suas fontes, mecanismos de exposição e atuação geral, assim como patologias com correlação cientificamente demonstrada, com enfoque no cancro da mama, obesidade e tiroide, e sumariar os conhecimentos sobre a realidade nacional e, assim, deduzir implicações para a realidade clínica, nomeadamente, a nível da prevenção.

Materiais e Métodos

Para a realização deste artigo foi utilizada a base de dados *PubMed*. A primeira pesquisa foi realizada em 23 de Dezembro de 2012 e teve como objetivos a seleção de um artigo que servisse de base a este trabalho e a identificação da data em que este tema começou a ser abordado. A palavra-chave utilizada foi "*endocrine disruptors*", sendo os resultados restritos a artigos com o texto integral disponível em língua inglesa ou portuguesa. Foram obtidos 3772 resultados, com data de início de 1995, e foi selecionado o artigo "*Endocrine-disrupting*

chemicals: an Endocrine Society scientific statement de 2009” com base no título, *abstract* e impacto obtido. Após a leitura deste artigo, realizou-se uma segunda pesquisa em 20 de Setembro de 2013, onde para além de aplicadas as restrições acima descritas, limitou-se a data de publicação até há 5 anos a esta data. Foram obtidos 2331 artigos, listados por data de publicação, entre os quais 317 eram revisões, 11 ensaios clínicos, 2 relatos de caso e 1 meta-análise. Para restringir o número de artigos, realizou-se uma terceira pesquisa restrita á espécie humana, obtendo-se 834 artigos, listados por relevância entre os quais 251 eram revisões, 9 ensaios clínicos e 2 relato de caso. Foram selecionados 46 artigos com base no título e *abstract*, e posteriormente, estando somente 36 disponíveis. Realizou-se uma quarta pesquisa com as mesmas restrições que a segunda com obrigatoriedade de filiação portuguesa. Foram obtidos 50 resultados, dentro dos quais foram selecionados, com base no título e *abstract*, 25 artigos aparentemente relevantes para o tema. Foi realizada uma quinta, sexta e sétima pesquisa com as mesmas limitações que a segunda pesquisa mas com as palavras-chaves “*endocrine disruptors AND breast cancer*”, “*endocrine disruptors AND obesity*”, “*endocrine disruptors AND thyroid*”, sendo selecionados os artigos com base no título e *abstract*. Na quinta pesquisa selecionaram-se 10 dos 58 artigos disponíveis. Na sexta pesquisa selecionaram-se 15 artigos 84 disponíveis. Na sétima pesquisa selecionaram-se 28 artigos dos 216 disponíveis. Foi consultado o “Portal de Estatística de Saúde” da Direção Geral de Saúde de Portugal para consultar informação epidemiológica. Por fim, realizou-se uma pesquisa no motor de busca *Google* com as mesmas palavras-chave; dos resultados obtidos, somente um apresentou relevo para este trabalho. Foi empregada, pela complexidade e dificuldade de tradução, a nomenclatura internacional, usada na literatura internacional e nacional, para descrever substâncias químicas.

Resultados

1.EDs: Quem são?

Os EDs são um grupo heterogêneo de substâncias, que podem ser naturais ou sintéticas no que concerne à sua estrutura e origem^{1,30}. Estes apresentam propriedades físicas e químicas distintas³⁹, tendo em comum o facto de serem pequenas moléculas com massa inferior a 1000 Dalton e, segundo uma perspetiva fisiológica, o facto de serem compostos que alteram o sistema endócrino e homeostático através de mecanismos endócrinos^{1,2,3}. Entre os EDs naturais incluem-se compostos de plantas (fitoestrogénios), hormonas esteroides animais ou humanas e metais¹. Os fitoestrogénios são componentes de alimentos como a cenoura, alho, maçã, café, cereja e legumes²⁹. Os metais com atividade ED comprovada incluem: o cádmio, mercúrio, arsénio, chumbo, magnésio, zinco e urânio^{29,37}. Entre os EDs sintéticos destacam-se lubrificantes/solventes, plásticos e plastificantes, pesticidas, inclusive os de uso corrente^{1,2,15,30,36}, fungicidas, herbicidas e fármacos^{27,38}, assim como os subprodutos de transformações ambientais ou biológicas destas substâncias¹. Na figura 1 e 2 são apresentadas listas simplificadas da classificação de alguns dos principais EDs mencionados na literatura.

O Instituto do Ambiente e Saúde desenvolveu uma base de dados com a lista das substâncias suspeitas de serem EDs¹⁵. Esta base de dados^a dinâmica contém atualmente mais de 900 compostos¹⁵. Os EDs são classificados nesta lista em três grupos:

- **Grupo I:** Compostos para os quais existe evidência considerável de atividade de disrupção endócrina e para os quais existe um grau elevado de preocupação face à exposição¹⁵.

- **Grupo II:** PEDs ou compostos para os quais existe um nível médio de preocupação face à exposição¹⁵.

- **Grupo III:** Compostos para os quais não existe evidência suficiente de atividade de disrupção endócrina ou existe unicamente um baixo nível de preocupação face à exposição¹⁵.

É, contudo, importante frisar não só que dentro de um mesmo grupo de químicos não é obrigatório que todos apresentem atividade de disrupção endócrina ou o mesmo tipo de disrupção^{1,2}, mas que também que não é consensual na literatura que as substâncias mencionadas anteriormente sejam EDs ou que estas tenham relevância clínica⁵.

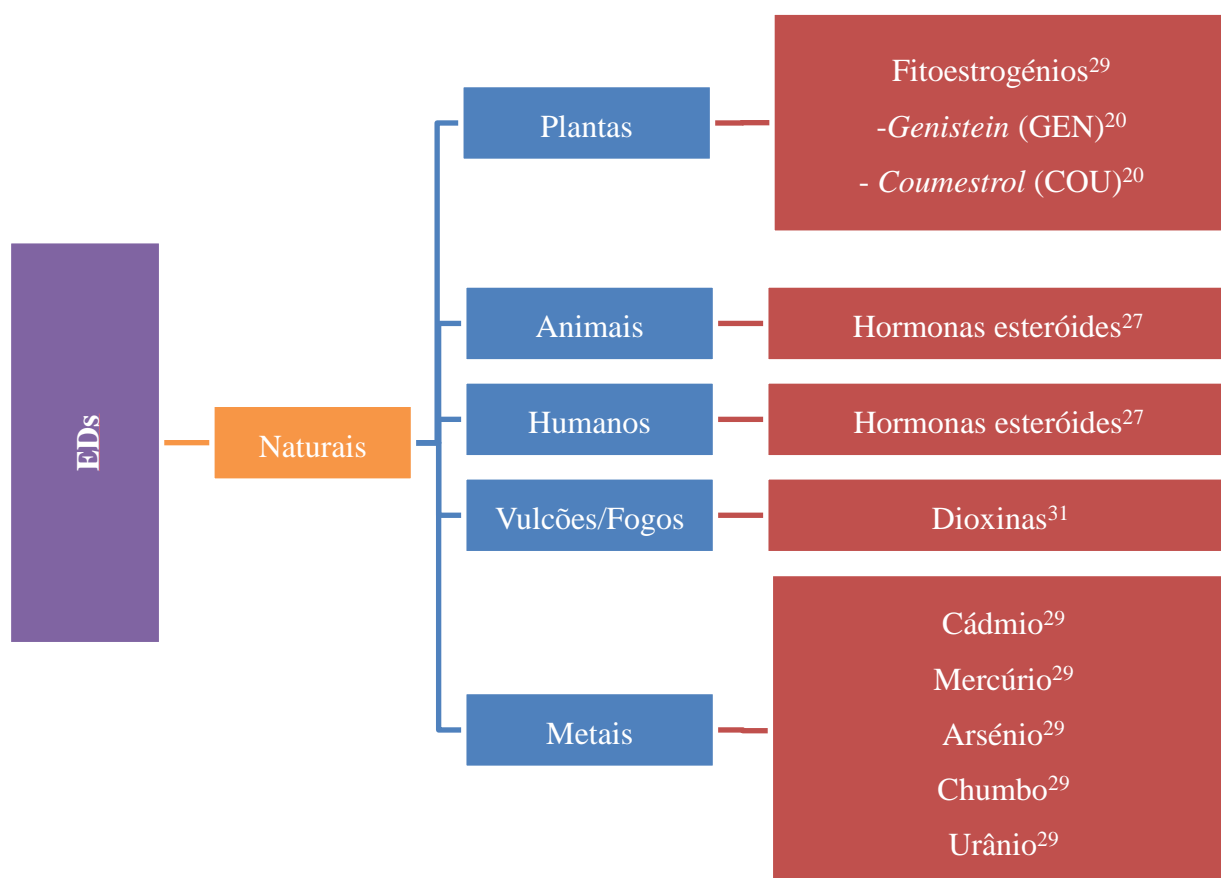


Figure 1 - EDs Naturais

^a Esta informação pode ser consultada em:
http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances_en.htm¹⁵

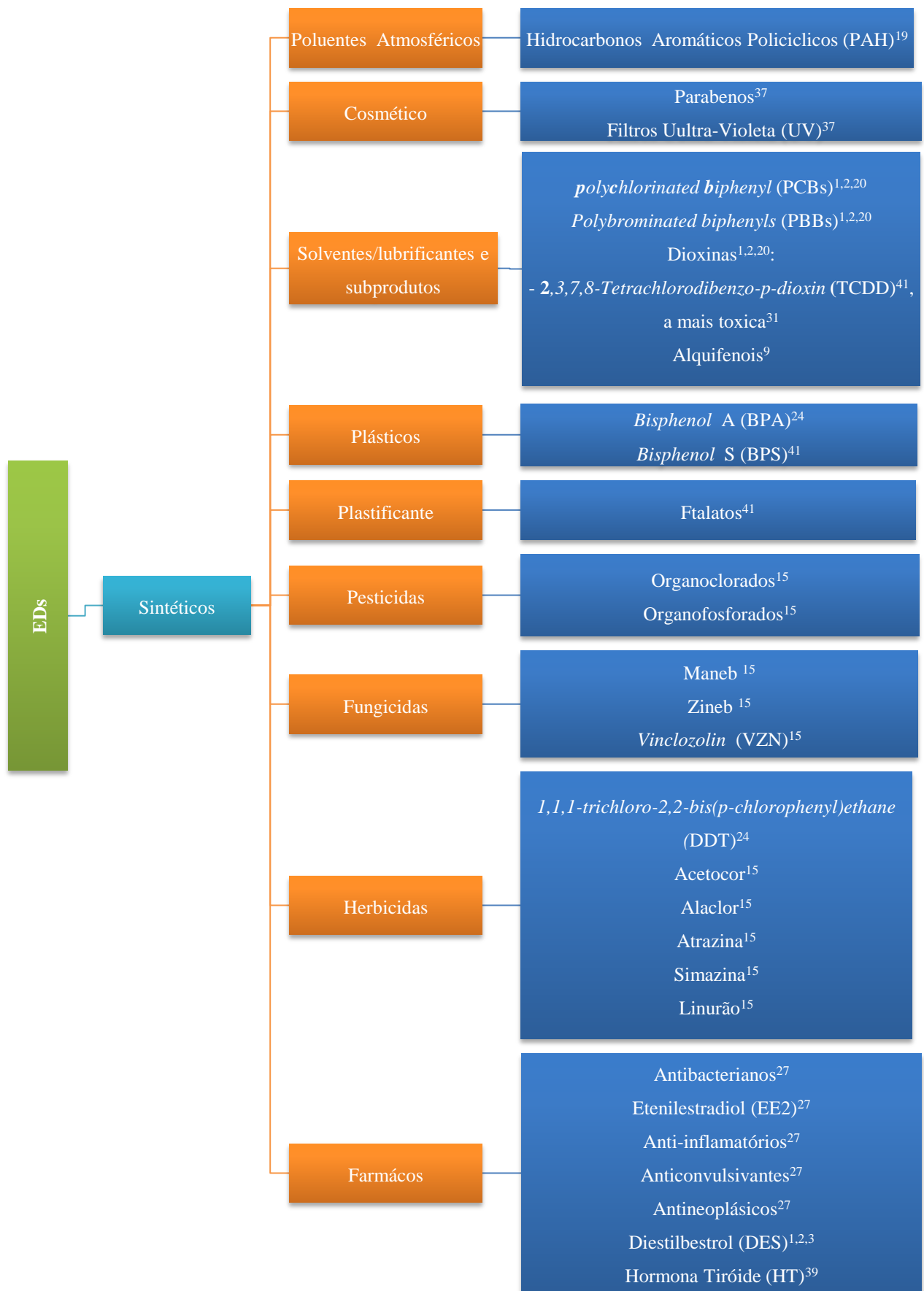


Figure 2 - EDs Sintéticos

2. EDs: Onde existem?

Os EDs são ubíquos no ambiente¹³, podendo estar presentes em materiais como mobília²² e equipamento médico³³, mercearias, e também ser subprodutos formados na combustão de resíduos ou compostos produzidos durante o fabrico de outras substâncias^{1,2}, artigos de higiene pessoal³⁹, cosméticos, têxteis, plásticos e materiais de construção^{1,2}. Com base na semivida, os EDs podem ser divididos em dois tipos, os de longa e os de curta semivida¹. Os EDs de semivida longa, denominados poluentes orgânicos persistentes (POP), são normalmente produtos de uso industrial projetados para terem períodos de atividade prolongados, que não degeneram facilmente (por exemplo, pesticidas) e que podem ser transportados pelo ar, água ou animais migratórios para locais distantes como o Ártico^{13,39}. Estes podem ser biologicamente ampliados e bioacumulados nos predadores do topo da cadeia alimentar, nomeadamente peixes como o salmão, e, deste modo, entrar na rede alimentar dos humanos^{1,13}. Estas substâncias podem também ser metabolizadas ou divididas em componentes mais tóxicos do que a molécula original^{1,24,25}. Alguns destes compostos, embora se encontrem proibidos há décadas, permanecem em níveis elevados no meio ambiente e são detetados com frequência como parte da carga corporal de muitos seres vivos, nomeadamente dioxinas e *polychlorinated biphenyl* (PCB)^{1,24,25}. Os POP, pelas suas características, representam riscos transgeracionais¹³. Os EDs de semivida curta, por exemplo os *biphenyl A* (BPA) e os ftalatos, permanecem no ambiente pois o seu uso é ubiqüitário, levando a uma exposição humana crónica junto da fonte, sobretudo em ambientes urbanos, escoamentos agrícolas ou descargas em afluentes^{1,13,25,39}. Os EDs acumulam-se na água, solo, ar, comida e tecidos biológicos^{6,15, 27, 30, 36, 38, 39}.

Os EDs presentes na água são provenientes de esgotos urbanos e rurais, tratados ou não tratados, e das escoamentos agrícolas^{16,38}. Por esta razão, os ecossistemas marinhos são os primeiros a sofrer alterações quando os EDs estão presentes³⁸. Em Portugal, por exemplo, foi

observado um aumento da incidência de hermafroditismo nos machos da espécie de amêijoas *Scrobicularia plana* presentes no estuário do rio Guadiana⁵⁶. Foi também notado, num outro estudo realizado entre 1998 e 2007, que as fêmeas da *Hydrobia ulvae*, uma espécie bioindicadora de *tributyltin* (TDT) presente na ria de Aveiro, apresentam em número cada vez maior de caracteres masculinos (fenómeno conhecido por imposex), não obstante a implementação das normas europeias de regulação da poluição por estes compostos relevantes⁵⁵. A persistência de EDs na água depende das características desta (solubilidade, coeficiente de concentração e constante de Henry)³⁸. Os EDs presentes na água são sobretudo EDs sintéticos³⁸ como fármacos (sobretudo os não sujeitos a prescrição médica), pesticidas e lubrificantes/solventes^{1,2,38}. Existe evidência de que a água tratada apresenta EDs³⁸ e que o tratamento desta com cloro pode levar à formação de substâncias policloradas conjugadas que poderão ser EDs¹⁷. Até ao momento, não existe evidência que o consumo de água tratada com concentrações mínimas de metabolitos de fármacos, na amplitude nanogramas por litro (ng/L), como citoestáticos e outros antineoplásicos, anti-inflamatórios, antibióticos, analgésicos, bloqueadores beta, hormonas esteroides, anticonvulsivantes e ansiolíticos, apresente risco para o ser humano^{27, 38}. Existe, no entanto, evidência, que estes sofrem bioacumulação em alguns animais aquáticos, apesar de não ser conhecido o significado deste fenómeno^{27,38}. A maioria dos estudos em Portugal foram realizados na área da biologia marinha, tendo sido detetada atividade disruptora endócrina provocada por ibuprofeno⁵⁰, fluoxetina⁴⁷ e *diethylstilbestrol* (DES)⁴³. Em dois estudos foi verificada a presença de EDs na água após tratamento destas^{49,64}. Noutros estudos^{45,51,58,59, 62,63} foram quantificados os EDs presentes nos diversos rios de Portugal (tabela 1).

Tabela 1 - Presença de alguns EDs nas águas Portuguesas

EDs		Estuário do Rio Mondego ⁶³		Ria Formosa ⁴⁵		Estuário do Rio Sado ⁵⁹		Efluentes da ETAR de Aveiro ⁵⁸		Rio Douro ⁶²		Minas de Águas o Alto Douro ⁵¹
Origem	Compostos	I	V	I	V	I	V	I	V	I	V	
A	E2	a	a	b	b	b	b	a	9,2	b	b	b
	E2	a						43	85	112,9		
	DDZ	1,1*					500	(-)		b	888,4	(-)
Vegetal	GEN						320				183,6	
	BIOA					170	b			191,4	b	
Far macêutica	EE2	a			24,3	b		a	a	101,9		b
	BPA	880,0			547		22	316	897	10,7		(-)
	OP	a			b		b	b	b	b		
Industrial	NP	a						2.410	75	a	a	
	Fosfatos	(-)			1,6	(-)						
	Sitosteol	(-)			12,300	(-)						
	Vários	(-)										c

Legenda: E2-17 beta estradiol, E3- estradiol, DDZ- daidzin, GEN – genistein, BIOA - biochanin A, EE2- 17 α -etenilestradiol BPA - bisphenol A, OP- 4-octylphenol, NP- 4-nonylpheno, a - ED não detetado, b -ED detetado em níveis provavelmente não nefastos, c- detetado em níveis nefastos I- Inverno, V- Verão, (-) - não estudado. Limite legal de químicos na água: 0,1 ug/L⁵¹ Nota: na tabela estão registados os valores máximos medidos em ng/L com exceção * ug/L.

Os EDs presentes no ar são sobretudo poluentes atmosféricos, como por exemplo as dioxinas, resultantes da combustão de produtos com cloro¹. Dentro deste grupo de EDs

podemos também considerar o fumo do tabaco, erupções vulcânicas, pó e emissões automóveis^{1, 2, 19}.

A presença de EDs no solo resulta do seu uso na agricultura como pesticidas (atrazina, sulfactos de endosulfan e clorpirifos⁵⁷), herbicidas, fungicidas e ainda dos EDs presentes nas fezes dos animais^{1,2}. Os EDs presentes na comida podem ser substâncias da própria comida, aditivos, conservantes, antibióticos e hormonas presentes na ração dos animais³⁹, ou substâncias que contactam com esta, como embalagens, pratos, talheres, máquinas de lavar e recipientes, que são transferidos para ela através de um processo dominado migração^{15,16,36}. É através do contacto com embalagens que a maioria dos EDs industriais contamina os alimentos^{15,36}. O plástico é o material mais utilizado nas embalagens (38%) seguido de papel e cartão (30%), metal (19%), vidro (8%) e outros (5%)³⁶. A legislação europeia limita a concentração de mutagénicos ou PED presentes em plásticos que contactam com alimentos¹⁵. Existem dois tipos de migração: global e específica. A migração global é aquela que ocorre independentemente do tipo de substância em estudo, a específica é dependente do composto¹⁵. A comunidade científica europeia estabeleceu os limites de cada uma para o plástico: a migração global tem de ser menor ou igual a 60 miligramas de substância por quilograma; a migração específica é limitada com base na avaliação toxicológica da substância, normalmente de acordo com a dose diária admissível ou da dose diária tolerável, sendo obrigatório estudar estes processos quando os produtos são cronicamente usados, como por exemplo os biberões^{15,16,30,36}. O processo de migração, apesar de previsto e regulado, é um problema mais complexo do que aparenta, porque muitas das substâncias que migram são chamadas de NIAS (substâncias adicionadas não intencionalmente) que resultam de produtos secundários, impurezas e produtos de decomposição dos materiais originais. As NIAS permanecem muitas vezes ocultas, não sendo detetadas^{30,36}, pois não existe nenhuma metodologia 100% eficiente e sensível para as detetar³⁰. A determinação de EDs em alimentos

ou águas é feita por técnicas cromatográficas acopladas a um sistema de espectrómetro de massa¹⁵.

3. EDs: Exposição

As fontes de exposição aos EDs são diversas, variando amplamente em todo o mundo e existindo diferenças significativas entre países^{1,16,39}. O ser humano é exposto a eles através das vias oral, inalatória, cutânea, sexual ou materna (através da placenta ou do leite)^{1,13,16,29,34} e em diversos locais, seja em casa, na rua e no trabalho²⁴. A maior exposição ocorre através da inalação do pó da casa, da alimentação ou da exposição ocupacional²⁴.

A exposição pode aumentar ou diminuir de acordo com o estilo de vida escolhido^{16,66}. Existe evidência de uma menor concentração de EDs na urina, nomeadamente de BPA e esteres de ftalatos, quando existe uma preferência pela comida fresca ou cultivada em casa, em detrimento da comida processada, pré-embalada ou de alimentos como queijos, leite e manteiga que tendem a absorver os EDs lipossolúveis^{20,66}. O modo de transporte dos alimentos pode também influenciar a quantidade de EDs neles presentes⁶⁶. Os automóveis produzem EDs que são posteriormente integrados na comida ou inalados pelo ser humano⁶⁶. Esta integração pode ser aumentada, por exemplo se o carro estiver num mau estado de preservação (quanto mais velho for o carro maior poderá ser a corrosão), ou quanto maior for a temperatura no interior, ambos fatores que levam ao aumentos dos EDs libertados⁶⁶. A utilização de produtos de higiene pessoal, cosméticos e, sobretudo, de fragrâncias promove também uma maior a exposição⁶⁶.

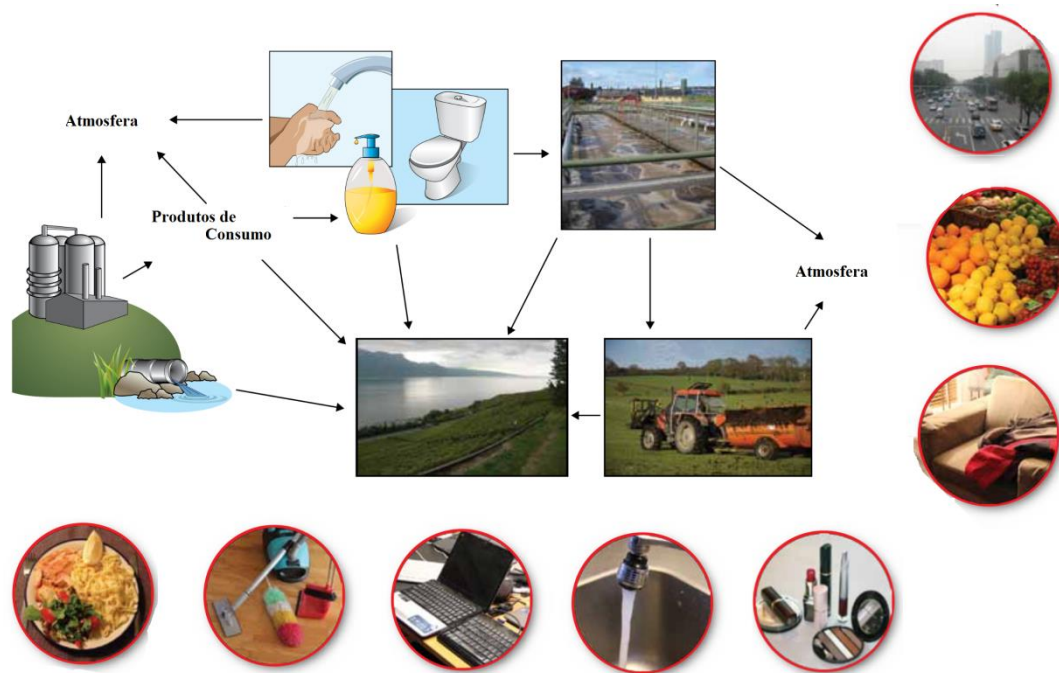


Figure 3 – Fontes de exposição e interações com o meio ambiente adaptado de State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012⁴.

4. EDs: Mecanismos de Ação e Efeitos. Transporte, Armazenamento e Eliminação

Até ao momento não existe nenhum estudo que indique que a via de entrada de um ED influencie o impacto que este têm. Para compreender os mecanismos de ação e consequências da exposição dos EDs é necessários compreender e conhecer o SE (Figura 4). Dada à complexidade do SE os mecanismos de ação são difíceis de discernir.

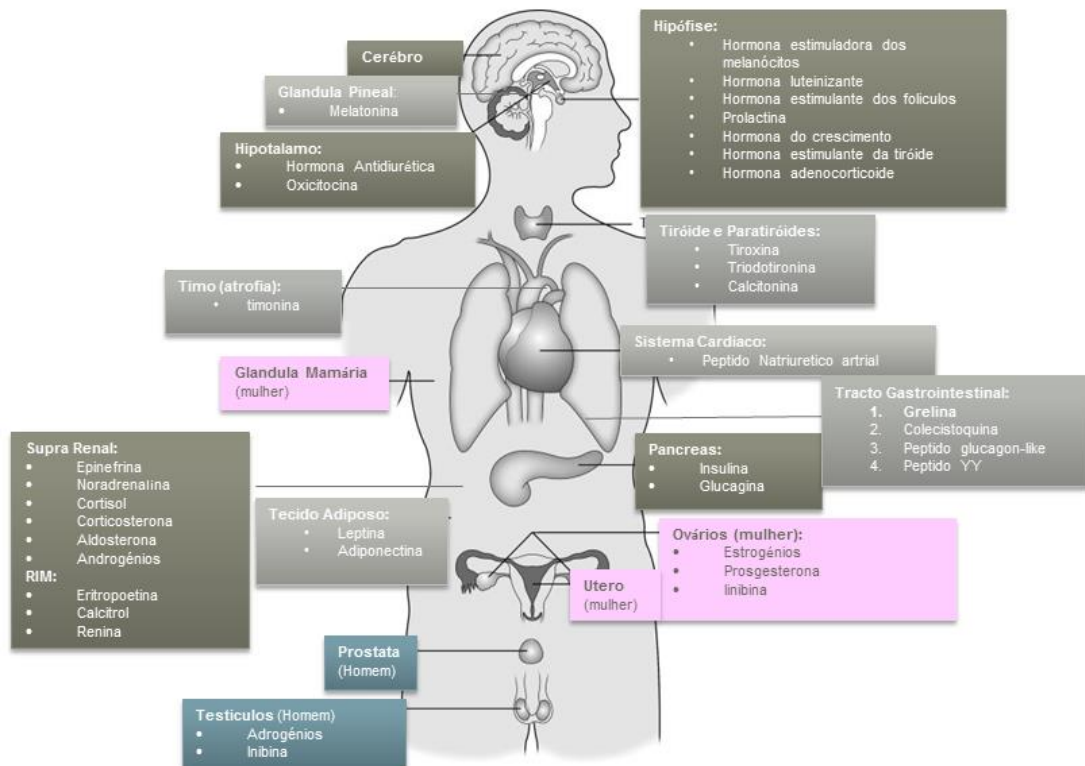


Figure 4 - Sistema Endócrino adaptado de Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement¹.

4.1 Mecanismo de Ação:

São conhecidos até ao momento dois mecanismos básicos: 1) ação direta num recetor proteico; ou 2) ação direta numa proteína específica que controla algum aspeto da entrega da hormona num local e tempo certo^{1,2,3}. À ação direta sobre um recetor nuclear que vai alterar diretamente a transcrição do ácido desoxirribonucleico (ADN) denomina-se mecanismo genómico e à ação numa proteína específica denomina-se mecanismo não genómico³.

Não existe exclusividade na atuação¹, podendo cada ED atuar por um ou vários mecanismos ao mesmo tempo. Por exemplo, o BPA que apresenta maior afinidade para os recetores de estrogénios (ERs) atua, também, com menor afinidade nos recetores das hormonas tiroideias (TRs) e nos recetores do hidrocarboneto aromático (AhRs)¹. Dados

indicam que pode existir um cruzamento entre as vias genómicas e não genómicas, através da ativação de recetores órfãos (elementos responsivos ao estrogénio (EREs) e AhRs)³.

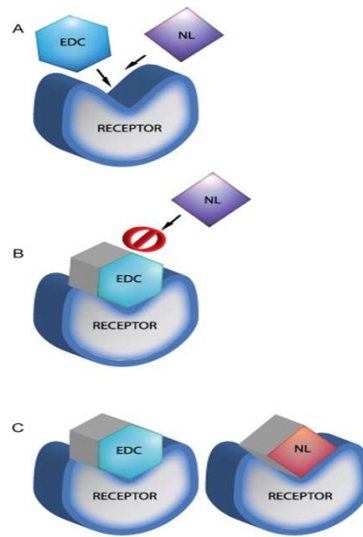


Figura 5 – Mecanismo genómico adaptado de *Endocrine disrupting chemicals and immune responses: a focus on bisphenol-A and its potential mechanisms*¹⁶. EDC – disruptor endócrino sintético, NL- ligando natural. A- competição pela ligação. B - a ligação ao ED em oposição com NL resulta numa alteração da via de sinalização. C- ED pode ligar-se a recetores sem NL, resultando num aumento de efeito.

4.1.1 Mecanismos Genómicos (figura 5): São os mecanismos mais estudados e, até ao momento, sabe-se que os EDs podem atuar nos recetores de estrogénio (ER), recetores de andrógeno (AR), recetores de progesterona (PR), recetores de hormonas tiroideias (TR) e recetores de retinoides (RR)^{1,17,20,31}. O ED pode competir com hormona pelo local de ligação no recetor e, quando ligado, pode ter um efeito agonista, agonista parcial ou antagonista, ou ligar-se a recetores normalmente livres e aumentar a expressão da hormona¹⁶. Os recetores ativados atuam como fatores de transcrição, coactivadores (ativação da coenzima A), corepressores e como sequência de ADN (ativação da proteína Fos/Jun 1 ou proteína de especificidade 1), modificando a transcrição e a síntese proteica^{3,33}. A ligação a um recetor,

nuclear ou não nuclear, resulta na mudança de conformação do receptor¹⁶. A mudança na conformação pode diferir em função do ligando (hormona ou ED), estando diferentes conformações associadas a diferentes funções e, portanto, a diferenças na atividade regulatória da expressão gênica^{1,3}. Deste modo, os EDs têm diferentes influências na expressão gênica entre si e entre ligantes endógenos^{1,3}.

A ativação de recetores nucleares resulta, em última análise, na síntese macromolecular e requer longos períodos de tempo para desencadear uma resposta¹⁷.

4.1.2 Mecanismos não Genômicos: A ativação destes mecanismos influencia os “*end points*” da proliferação celular, libertação de hormonas peptídicas, transporte de catecolaminas e a apoptose celular¹⁷. Os mecanismos até ao momento identificados são: ativação de recetores de membrana ou órfãos, mecanismos de indução rápida^{1,3,17}; interações com moléculas no citoplasma que direta ou indiretamente estão envolvidas na biossíntese ou metabolismo das enzimas^{1,3,6}; e mecanismos epigenéticos^{6,7}. Acredita-se ainda que existam, para além destes, outros mecanismos ainda não identificados^{1,3}.

A. Ativação de recetores de membrana ou órfãos: Os recetores com atividade conhecida são: os recetores de neurotransmissores (serotonina, dopamina, nora-adrenalina (NTR)) recetores de membrana de estrogênio (mER) alfa e beta^{1,3,17}, recetor transmembranar acoplado às proteínas G (GPR30)¹⁷, AhR^{1,3,16}, recetor do peroxissoma ativador da proliferação (PPAR)¹⁶ e EREs^{3,20}. Os EDs ligam-se ao recetores de membrana e rapidamente iniciam a cascata de sinalização, que culmina, em última análise, na ativação das quinases e fosfatases, influenciando a função celular por modificações pós-traducionais de uma variedade de proteínas^{17,31}. Estas podem levar, por exemplo, ao influxo de cálcio e alterações da motilidade². Estes mecanismos não genômicos de indução rápida, interagem com sinais de

tradução de moléculas, como adenosina monofosfatada cíclica (cAMP) e proteínas G, ou diretamente com fatores de transcrição secundários, como Ap-A, STATS, NFkB e Sp^{1,3,17,33}. A existência de mecanismos não genômicos impossibilita a determinação da potência de um ED ubiquitário com a fraca afinidade para os recetores nucleares^{2,17}. A ativação sustentada destes recetores pode influenciar de forma permanente alterações celulares, por exemplo, na proliferação, diferenciação e movimento¹⁷. A ativação do AhR e PPAR parece mediar alterações imunológicas resultantes da exposição a EDs, efeito observado por exemplo em animais expostos a BPA¹⁶.

B. Interações com moléculas no citoplasma, que diretamente ou indiretamente estão envolvidas na biossíntese ou metabolismo das enzimas: A ação em proteínas no citoplasma resulta na ativação das vias Src/Ras/Erk, vias ligada aos efeitos proliferativos do estrogénio e modulação de óxido nítrico^{1,2,6}. Foram identificados agrupados de ERs nos citoplasmas, que poderão mediar os efeitos rápidos (em segundos) dos EDs com propriedades estrogénicas³³.

C. Mecanismos epigenéticos: Os mecanismos epigenéticos são um tipo especial de mecanismo não genómico, que consiste em alterações na metilação do ADN através da modificações no promotor da metilação, resultando na hipo ou hipermetilação de regiões de ADN de CpG e/ou na alterações nas proteínas histona e/ou na remodelação da cromatina e/ou expressão do microRNA^{5,6,7,16}. A quantidade de genes metilados no início da vida pode ter efeitos nefastos no futuro do indivíduo³⁴. Pensa-se que este mecanismo é responsável pelas alterações irreversíveis e efeitos transgeracionais observados^{1,2,6,7,34}. Durante o desenvolvimento embrionário e fetal, a epigenética controla a diferenciação celular dividindo o genoma em domínios de transcrição ativos e inativos⁶. Nas fases subseqüentes de vida ou janelas críticas de diferenciação, a epigenética serve para controlar a expressão correta ou

inativar conjuntos de genes transcritos que, em última análise, definem o fenótipo maduro de uma célula ou tecido, nas fases específicas do desenvolvimento, por exemplo, puberdade, gravidez e envelhecimento.^{6,7} Vários fatores ambientais externos podem alterar a programação epigenética e, deste modo, aumentar ou diminuir o risco de desenvolvimento da doença⁷. Existe evidência de influências maternas e paternas sobre a programação fetal⁶. Uma dieta desequilibrada da mãe e do pai parece estar associada ao desenvolvimento de diabetes, obesidade, cancro e colite pelo feto⁶. Estudos demonstraram que a desnutrição durante a gravidez independentemente da fase do desenvolvimento fetal resulta numa maior prevalência de tolerância reduzida à glicose, de doenças coronárias e obesidade, sendo que este último só está demonstrado em mulheres⁶. Esses estudos suportam a teoria de programação fetal, também conhecida como a " hipótese Barker", ou seja, a tentativa do feto se adaptar às condições adversas no útero, resulta em adaptações que são mais tarde prejudiciais à vida quando estas condições cessam de existir^{6,7}. O facto da exposição durante a vida fetal ou infância poder gerar doença no adulto denomina-se também de efeito de latência, e representa um novo paradigma do "desenvolvimento e origem da saúde humana e doença"^{1,2}. Este efeito foi observado para o *Polybrominated biphenyl* (PBB), *Polychlorinated biphenyl* (PBC), DES, BPA, fitoestrogenios e *Vinclozolin* (VNZ)^{1, 2,16}.

4.2 Efeitos:

Os EDs têm três efeitos básicos: 1) aumentam a expressão de uma hormona, 2) bloqueiam a sua atividade ou 3) alteram o seu efeito¹⁶. O efeito de um dado ED depende da dose¹⁵, sexo^{1,2} e idade do organismo^{1,2}, tipo de atividade^{1,2}, e se atua isoladamente ou em mistura¹⁵.

a. Dose: Os EDs são estruturalmente semelhantes a muitas hormonas e funcionam, como elas, em concentrações extremamente baixas^{1,2,3}. A definição de “baixa dose” não é clara, nem consensual². Contudo, é comumente aceite como uma dose mais baixa do que a dose em que se espera ter efeito². Dois aspetos importantes quando se fala de baixas doses, é que estas dependem da sensibilidade inerente do sistema endócrino e da idade do organismo¹⁵.

Analogamente às hormonas e neurotransmissores, os EDs são capazes de induzir respostas em função da dose bifásicas, de relação não linear entre a dose e o efeito, não monotónicas (mudam de sinal), em forma de U, ou U invertido (figura 6)^{1,2,3}, existindo substâncias com curvas complexas^{1,2,3}. Esta característica não permite a extrapolação de um dado efeito a uma dada dose para outra dose². Até ao momento existem três hipóteses que justificam estas curvas dose-efeito:

- Altas doses de EDs, contrariamente às baixas doses, resultam numa diminuição do número de recetores, diminuindo a metabolização e conjugação do EDs (efeito de *downregulation*)²;

- O ED atua em duas ou mais vias diferentes em doses diferentes, cada uma com uma curva monotónica dose-efeito própria, com um *endpoint* comum, mas com efeitos opostos, gerando efeito zero²;

- Perda de feedback em determinadas doses².

Como a ciência ainda não compreende totalmente o SE e os EDs, é possível que doses extremamente baixas tenham efeitos significativos¹⁵ ou mais potentes que doses mais altas¹.

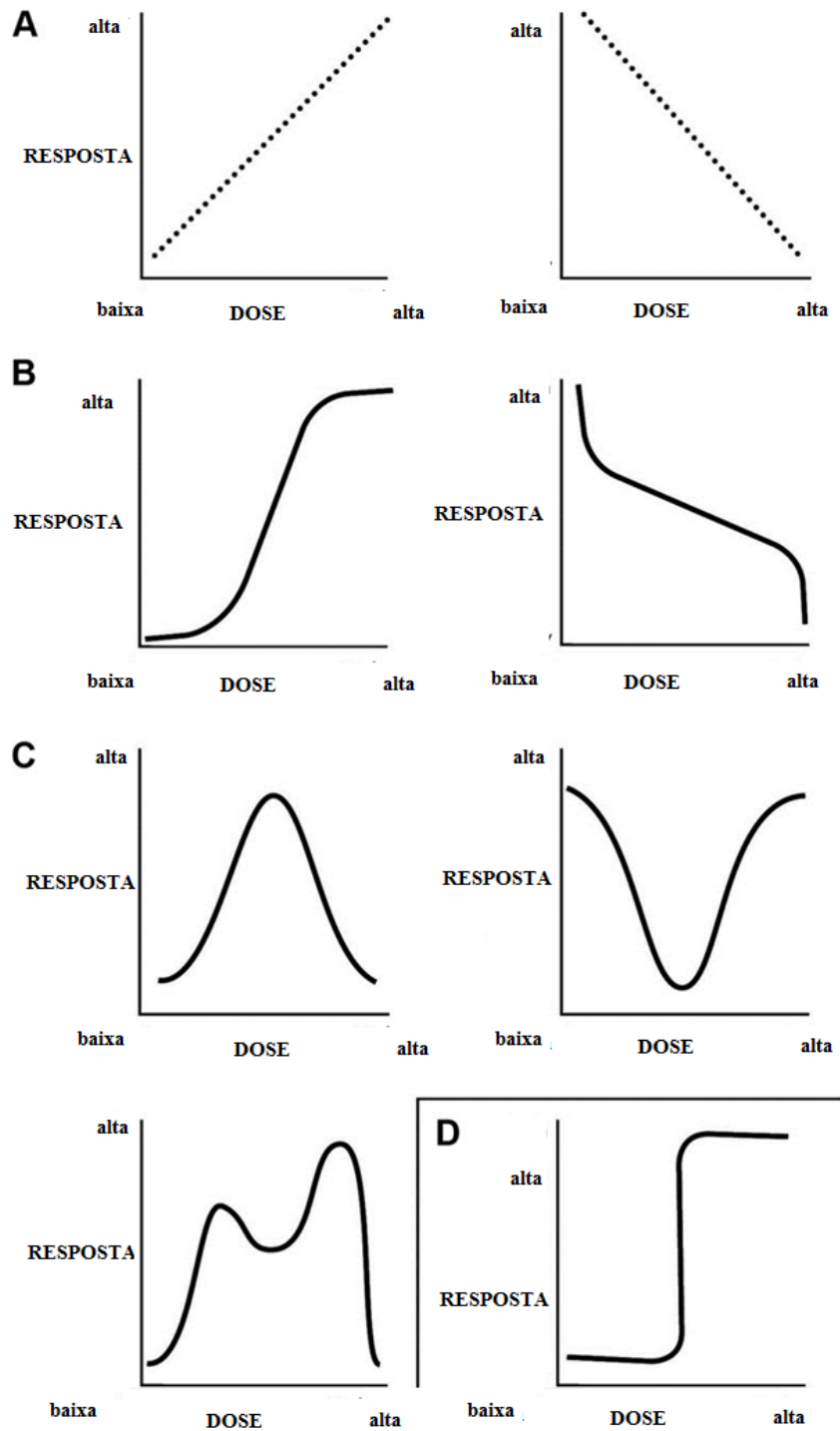


Figura 5 – Mecanismos genómicos adaptado de *Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses*³. A - Respostas lineares, se existem associações positivas ou inversa entre a dose e o efeito, é possível a extrapolações de uma dose para outra. B - linhas monótonas, respostas não-lineares. A inclinação da curva nunca muda de sinal, mas faz a mudança de valor. Assim, o que acontece em

doses muito altas ou muito baixas não é útil para prever o efeito das exposições em doses moderadas. Estes tipos de respostas têm muitas vezes uma componente linear dentro de si e as previsões podem ser feitas dentro do intervalo linear. C - são exibidos três tipos diferentes de curvas não lineares e não monotónicas (muda de sinal) – U, U invertido e multifásica. É impossível a extrapolação de efeitos, mesmo em pequenos intervalos. D - A resposta binário onde uma gama de doses não tem nenhum efeito, seguida, de um limite onde todas as doses têm o mesmo efeito.

b. Sexo: A mesma hormona têm funções/efeitos diferentes dependendo do sexo ^{1,2,3,20,24}. A diferenciação do fenótipo feminino e masculino, assim como a sua diferenciação sexual cerebral, não é dependente dos mesmos processos fisiológicos, ou seja, do mesmo grupo de hormonas ^{1,3,20}. Pensa-se que o sexo masculino seja mais sensível á exposição de EDs porque necessita tanto de testosterona como de estradiol para a sua diferenciação sexual, enquanto o desenvolvimento do fenótipo feminino é um processo, cujas etapas não dependem destas hormonas ou se realizam através da omissão destas ^{1,3,20}. O cérebro dos mamíferos é particularmente sensível a hormonas na fase embrionária tardia e início da vida neonatal, por isso, nestas duas janelas temporais, pequenas alterações nas concentrações das hormonas podem exercer grandes efeitos¹. Existem dados consideráveis e consistentes que os PCBs, fitoestrogénios, fungicidas e pesticidas, entre outros xenobióticos podem levar á disrupção da diferenciação sexual cerebral^{1,3}. Há também evidência que mesmo a exposição em adulto à mesma substância pode ter efeitos opostos nos diferentes sexos^{1,3}.

c. Idade do Organismo: As mesmas hormonas têm funções/efeitos diferentes dependendo do estadio de desenvolvimento: período fetal, neonatal, infância, período pré-

pubertário, pubertário, adulto ou grávida^{1,2,3,16}. As crianças, em especial os recém-nascidos e fetos, são mais sensíveis aos EDs^{16,20,24}, porque:

- As vias metabólicas são ainda imaturas, logo têm menor capacidade de metabolizar e eliminar tóxicos em comparação com os adultos²⁰;
- Os fetos não apresentam barreira hemato-encefálica completa, nem barreira testicular, tornando o sistema nervoso e reprodutor mais sensível²⁰;
- Não apresentam os órgãos sexuais completamente desenvolvidos⁹;
- Apresentam maior atividade mão-boca¹;
- Consomem mais calorias por área de superfície corporal¹³, apresentando uma maior taxa metabólica que os adultos¹;
- Têm maior ventilação por minuto (inalação de maior número de aerossóis)¹³;
- Período fetal é quando ocorre a definição da epigenética⁷.

O período fetal é, ainda, uma altura crítica para a exposição a EDs, pois é um período de rápidos eventos estruturais e funcionais com processos de proliferação, diferenciação e migração^{1,2}. A exposição a EDs neste período pode levar a alterações persistentes, com consequências mais graves e irreversíveis^{1,3,7}, contrariamente à exposição de um organismo adulto, onde o efeito desaparecerá quando for removido o ED e que se restringe ao mau funcionamento de órgão endócrino normalmente desenvolvido¹. Curiosamente, têm sido relatadas concentrações superiores de EDs na urina de crianças e recém-nascidos quando comparados com adultos²⁰. A figura 6 mostra janelas temporais em que cada órgão é mais sensível aos EDs¹.

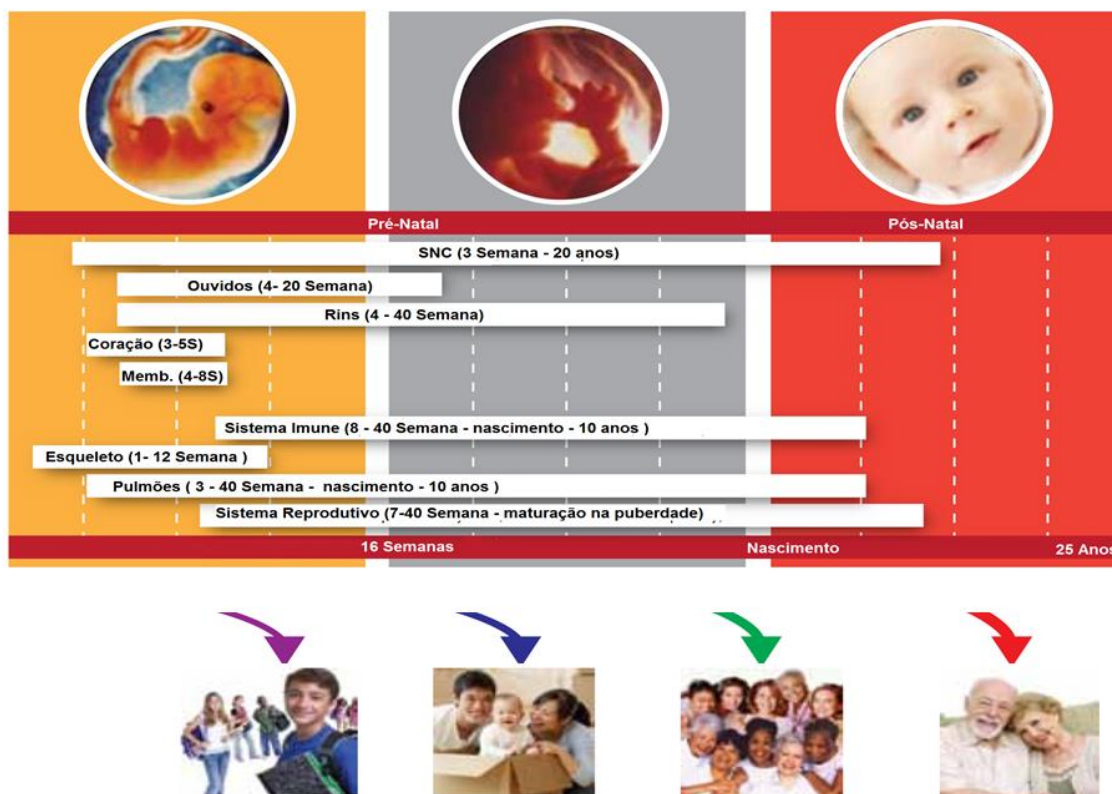


Figura 6 – Janelas de sensibilidade, adaptado de *State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012*⁴.

d. Tipo de atividade: A sensibilidade aos EDs não é dependente da sua origem, mas sim da função da substância que mimetizam³⁹. Os EDs podem ter atividade:

- Xenoestrogénica³, por exemplo os PCB, *Polybrominated diphenyl ether* (PBDE), *1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane* (DDT)⁴¹;
- Antiestrogénica³, por exemplo o PBDE e o Metociclor⁴¹;
- Xenoandrogénica, atividade menos frequente que a xenoestrogénica³ por exemplo PCB⁴¹;
- Antiandrogénica³, por exemplo, o VZN⁴¹.
- Disruptora das hormonas da tiroide ou cortisol³,
- Mista³, por exemplo os fitoestrogenios em baixas doses têm atividade antiandrogénicas e em altas doses estrogénica⁴⁰, DDT é um agonista do estrogénio e é

metabolizado em *Dichlorodiphenyldichloroethylene* (DDE) que é um antagonista dos androgénios¹.

Os EDs com atividade “anti” bloqueiam o recetor e, portanto, o efeito resultante é a ausência do efeito conhecido para aquele receptor³. Os pesticidas, fungicidas e herbicidas apresentam muitas vezes atividade antiandrogénica³⁴.

Os xenoestrogenios entram no corpo humano principalmente através da cadeia alimentar e variam entre si na concentração em que estão ativos (pM ou nM) e padrão temporal em que ativam o receptor³. Atuam via recetores nucleares de estrogénios (ER α e ER β), recetores de estrogénios da membrana (mER α , mER β s e GPR30), recetor órfãos (EREs), interação direta com moléculas no citoplasma, isoladamente ou em simultâneo³. Temos como exemplo de substâncias xenoestrogénicas o BPA, ftalatos e fitoestrogénios³⁴. Os EDs com atividade antiestrogénica atuam ligando-se aos recetores estrogénios ou através da inibição da enzima aromatase³.

A disrupção da função da tiroide acontece sobretudo ao nível regulação da disponibilidade de ligação do pré-recetor³. A ativação do AhR tem um papel de destaque na promoção do crescimento do tumor³.

e. EDs isolados ou mistura: Muitas vezes o ser humano está exposto a um “cocktail” de EDs que podem ter atividade aditiva como, por exemplo, adição da atuação de *Nonylphenol* (NP) e do estrogénio já presente. Esta atividade sinérgica, pela combinação da atividade de dois EDs cuja soma é superior à adição das duas atividades isoladas, pode ocorrer quando, por exemplo um ED que aumenta o número de recetores na célula e um segundo ED que se liga a esses recetores e os activa^{1,2,15,17}. Foi demonstrado que vários tipos de misturas podem atuar em doses baixas e de forma não monotónica^{1,2,17}. São exemplos de misturas de EDs produtos de limpeza e cosméticos¹⁷.

Para além das variáveis que determinam o efeito dos EDs apontados anteriormente, cada pessoa tem uma exposição única no tempo, quantidade e tipo de EDs conhecidos e desconhecidos, associadas a diferenças individuais genéticas^{1,13}, no metabolismo e composição do corpo¹, sendo por isso, extremamente difícil estabelecer a ação e relação causal entre um dado ED e uma patologia^{1,17}.

4.3 Transporte e Armazenamento:

A sua estrutura, semelhante à das hormonas, permite aos EDs atuarem, serem transportados e armazenados dentro dos mesmos tecidos que estas³. Por exemplo, os EDs como BPA e ftalatos, assim como as hormonas lipofílicas, têm baixa solubilidade em água e alta solubilidade lipídica, levando à sua bioacumulação no tecido adiposo^{3,66}. A sua bioacumulação no tecido adiposo leva à sua persistência no organismo e a uma libertação lenta e prolongada, podendo aumentar os efeitos nefastos no organismo⁶⁶.

4.4 Eliminação:

Os EDs, tal como as hormonas, podem ser encontradas em todos os líquidos biológicos humanos, como esperma, sangue do cordão umbilical, leite, e podem também ser excretados quer na urina quer nas fezes^{1,2,3,16,20}. São também excretados no mecónio²⁰. Um estudo **em Portugal** detetou a presença de BPA e *Bisphenol B* (BPB) na urina dos portugueses, havendo BPA livre em 45% das amostras e BPA total em 85% das amostras. O BPB só estava presente em duas amostras na forma conjugada⁵³.

5. EDs: Efeitos na Saúde

Pensa-se que os EDs são responsáveis por uma variedade de doenças e distúrbios, incluindo obesidade, diabetes, cancro, doença cardíaca e problemas de reprodução, assim como, doenças do neurodesenvolvimento e neurodegenerativas¹⁵. Efeitos na reprodução e no sistema imunitário foram relatados nos peixes, jacarés, focas e pássaros⁶, porém a informação acerca dos efeitos na espécie humana é controversa e contraditória.¹³. Há exemplos históricos de derrames tóxicos ou contaminações, como por exemplo durante a guerra do Vietname ou na cidade Severo, em Itália, que demonstram uma relação direta entre um produto químico e a manifestação de doença de uma glândula endócrina (dioxinas e PCBs)¹. No entanto, este tipo de exposições pontuais não é representativo da exposição, mais comum e generalizada, a uma ampla mistura persistente de substâncias químicas¹. Os estudos epidemiológicos fornecem informação sobre os possíveis EDs a que a população está exposta e a associação com doenças, enquanto os estudos em animais ou em células humanas permitem ter uma visão do mecanismo pelo qual dado ED causa disrupção¹³. *Em Portugal*, a temática dos EDs foi abordada pela primeira vez em 2002 por Amaral Mendes, não existindo na altura evidência de disrupção endócrina no nosso país⁶⁵. Na tabela 2 estão sumariados a existência ou não de evidência do papel de EDs nas diversas patologias.

Tabela 2 - Evidência de relação de exposição a EDs e o desenvolvimento de patologia

Patologias	Evidência de aumento da prevalência e/ou incidência	Evidência de relações de associação com EDs (Estudos Epidemiológicos)	Estudos laboratoriais
Cancro da Mama	Sim ^{2, 15, 19}	Sim ¹⁹	Sim ²⁰
Cancro do Pulmão	Sim ¹⁹	Sim ¹⁹	Sim ¹⁹
Cancro das Células renais	Sem dados	Sem estudos	Sim ¹⁹
Cancro do Pâncreas	Não ¹⁹	Sim ¹⁹	Sim ¹⁹
Tumor Cerebral	Sem estudos	Sim ¹⁹	Sem estudos
Tumor do Ovário	Sem estudos	Sim ¹⁹	Sim ¹⁹
Tumor Testicular	Sem estudos	Sim ^{1,2}	Sim ^{1,2}
Cancro da Próstata	Sim ¹	Sim ¹	Sim ¹
Baixo Peso. Baixa Estatura. Baixo Perímetro Craniano. Prematuridade	Sim ^{1,2,13}	Sim ^{1, 2, 13, 20}	Sim ^{1,2,13,20}
Malformações congénitas	Sim ^{13, 69}	Sim ^{13, 69}	Sim ^{13, 41, 44,48}
Alterações da Diferenciação Sexual	Sem dados	Sim ^{24, 33, 34}	Sim ^{20, 24, 33, 34, 41}
Distúrbios da puberdade	Sem dados	Sim ^{20, 24, 29}	Sim ²⁹
Infertilidade	Inconclusivos ^{1, 26, 41, 68}	Inconclusivos ^{1,2, 6, 41, 68}	Sim ^{40, 41, 46, 65}
Endometriose	Sem dados	Sim ¹	Sim ¹
Síndrome de Ovários Poliquísticos	Sem dados	Sim ¹	Sim ¹
Doenças Autoimunes	Sem dados	Sem estudos	Sim ²⁰
Défice de Atenção e Síndrome de hiperatividade. Autismo. Atraso Mental.	Sim ²⁰	Sim ^{20, 22, 24}	Sim ^{20, 22, 24}
Obesidade. Diabetes. Síndrome Metabólico.	Sim ^{1, 2, 13, 31,67}	Sim ³¹	Sim ³¹
Hipotiroidismo	Sim ²⁵	Sim ²⁵	Sim ²⁵

5.1 Cancro da Mama

O cancro da mama é um dos cancros mais comuns e é a segunda causa de morte por neoplasias em mulheres no mundo todo⁴³. Pode ser de causa hereditária (5-27 %) ¹⁰, por mutações nos genes BRCA1 e BRCA2¹⁹, mas a grande maioria dos casos é de causa desconhecida¹⁰. Sabe-se que o estado socioeconómico, alguns aditivos de comida, álcool, o sexo, a idade, a paridade, a idade da menarca, a idade da menopausa, terapias com estrogénios, alguns antibióticos e radiação são fatores de risco para o desenvolvimento de cancro da mama ^{10,19}. A importância das influências ambientais e exposições exógenas sobre a paridade e a idade da menarca já foram demonstrados¹⁰. Um número cada vez maior de evidência demonstra que os EDs são capazes de alterar o desenvolvimento mamário, sobretudo nas fases primordiais da vida, conduzindo a patologia ao longo desta¹⁰. Estima-se que 40% de todos os cancros nas mulheres são regulados por hormonas e, portanto, há muitos potenciais mecanismos pelos quais a exposição EDs pode modificar o risco de desenvolver cancro¹⁰. O desenvolvimento da glândula mamária ocorre em três estádios distintos: durante vida fetal, peripubertário e gravidez⁸. O broto mamário fetal começa a ser formado no final do primeiro trimestre da gravidez⁸. Relativamente pouco crescimento epitelial é observado até ao início da puberdade, onde o crescimento da glândula é influenciada pelas hormonas da hipófise e dos ovários⁸. As unidades lobulares ductais terminais são estruturas indiferenciadas e altamente proliferativas, e como tal, são sensíveis aos efeitos dos carcinogéneos e outros produtos químicos¹⁰. A mama atinge uma fase estática após a primeira menstruação, mudando ligeiramente com cada ciclo menstrual adicional¹⁰. O desenvolvimento da mama é regulado principalmente pelo estrogénio, que promove o crescimento dos ductos, pela progesterona, que promove o desenvolvimento lóbulo-alveolar, e pela prolactina, insulina e corticosteroides que desempenham um papel primordial na lactação²¹. A glândula mamária é também um

tecido autócrino/parácrino, produzindo e respondendo a hormonas produzidas pela própria célula^{21,22}.

O cancro da mama é uma doença causada por várias alterações deletérias que interferem com a comunicação recíproca entre células e entre células e a matriz extracelular circundante³². Os EDs podem atuar sobre o tecido mamário diretamente, como carcinogénico, ou indiretamente, aumentando a sensibilidade num segundo “hit” ou propiciando o desenvolvimento de alterações histológicas que estão na base do desenvolvimento de tumores. Exemplos destas alterações são o aumento da taxa de crescimento epitelial, a alteração da composição do estroma da glândula, a modelação da resposta imune, a alteração da resposta de hormonas endógenas e alteração de botões terminais da mama⁸. Apesar de toda evidência que aponta para um papel etiológico dos EDs no cancro da mama, foram relatados alguns efeitos protetores, nomeadamente dos fitoestrogénios^{2,10}.

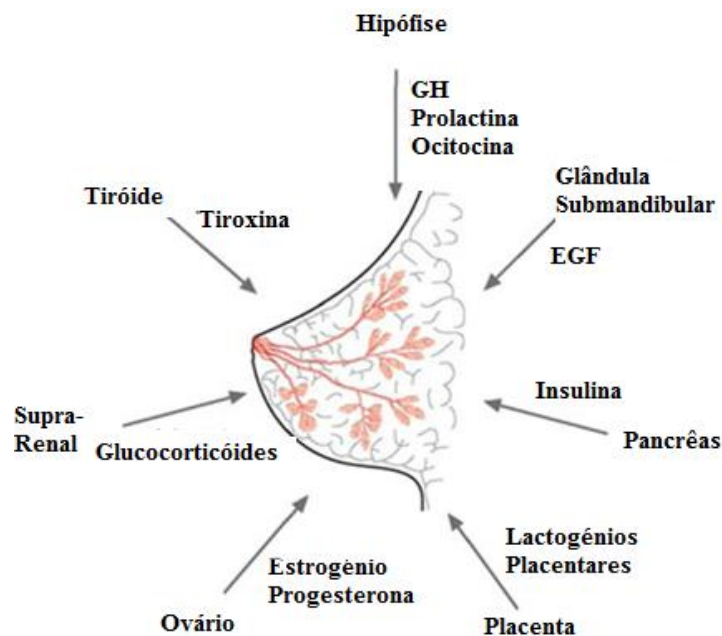


Figura 7- Sistema hormonal da glândula mamária adaptado de “Endocrine disruptors and the breast: early life effects and later life disease”¹⁰

A. Dados epidemiológicos:

De acordo com estatísticas da Grã-Bretanha, a incidência de cancro da mama nas mulheres aumentou 57%, passando o risco de 77 por 100 mil em 1978 para 120 por 100 mil em 2007, tendo essa tendência sido observadas em todo o mundo²³. Os dados mais recentes dos EUA estimam que 1 em cada 8 mulheres serão diagnosticadas com cancro de mama na sua vida, um número que não diminuiu mesmo após uma diminuição drástica no uso de tratamentos hormonais pós-menopausa, procedimento associado com o aumento do risco de cancro da mama^{10,19}. *Em Portugal*, a taxa de mortalidade por tumores malignos da mama tem vindo a aumentar lentamente e era em 2010 de 30,5/1000 habitantes⁶⁸.

A. Estudo Epidemiológico – Exposição

No Egito, um estudo realizado entre 1999-2006, concluiu que a taxa geral de incidência de cancro mama foi três a quatro vezes maior nas áreas urbanas relativamente às áreas rurais, em todas as faixas etárias, em todos os anos estudados, e maior nos distritos mais desenvolvidos²⁴. Outro estudo caso-controlo multicêntrico, realizado em oito países europeus para investigar fatores de risco ocupacional de cancro de mama masculino, concluiu que os profissionais com maior risco de desenvolver esta patologia são os mecânicos, pintores, trabalhadores de silvicultura e exploração florestal, saúde e ação social e os fabricantes de móveis²⁸. Sugeriu-se que isto se deva à exposição de PAH, gasolina e solventes de petróleo²⁸. Um estudo caso-controle canadiano verificou que existia um maior risco de desenvolver esta neoplasia em trabalhadores da agricultura, bares e casinos, fabricação de plásticos automóveis, de conservas de alimentos e indústria metalúrgica¹¹³. Neste estudo, o risco de cancro de mama na pré-menopausa foi maior para trabalhadoras de plásticos, automóveis e conservas de alimentos¹³³. Todavia, num outro estudo não foi encontrada uma associação

entre as concentrações no soro de pesticidas e o aumento da suscetibilidade para desenvolver cancro da mama¹⁸.

B. Estudos Laboratoriais – Mecanismos

Foram implicados como fatores etiológicos nesta doença o BPA^{11,12,61,81,115}, OP¹⁴, 2,3,7,8-Tetraclorodibenzodioxina (TCDD)³⁵, *Benzylbutylphthalate* (BBP), *1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl) ethylene* (p,p'-DDT)^{81,115}, DES¹¹, alguns pesticidas¹¹⁴, cádmio¹¹⁶, alguns ftalatos¹¹⁷ e retardantes de chama¹¹⁸. Os mecanismos até ao momento identificados foram:

- Ativação de fatores transcrição/genes envolvidos na diferenciação celular^{12,61}. Foi demonstrado o aumento da expressão do gene BRCA1, BRCA2, BARD1, CtIP, RAD51 e BRCC3, todos os quais são genes envolvidos na reparação do ADN. Assim como, regulação negativa da PDCD5 e BCL2L11, ambos os quais estão envolvidos na apoptose⁶¹. O BPA foi a principal substância implicada¹².

- Alteração das catepsinas, proteases que têm sido implicados na progressão do cancro¹⁴. Temos como exemplo de uma substância capaz deste efeito o OP¹⁴.

- Alteração ou expressão excessiva de AhR^{60,81,114}. Temos como ED capaz de provocar este efeito o DES⁸¹.

- Alteração ou expressão excessiva dos ER^{14,114}.

- Alteração da expressão de microRNA^{11,115}, por prováveis mecanismos epigenéticos¹¹, como hipermetilação e hipometilação⁶¹. Por exemplo o BPA e DDT¹¹⁵.

- Ativação das GRP30¹¹⁶.

5.2 Obesidade

Os xenobióticos lipossolúveis podem acumular-se no tecido adiposo, funcionando como um reservatório¹.

A. Dados Epidemiológicos

Os dados mais recentes indicam que esta patologia aumentou nas últimas décadas, a nível global e em todas as faixas etárias^{1,2,13,31}. Foi registado um aumento da prevalência de obesidade (IMC \geq 30) em adultos norte-americanos, entre os 20 e os 74 anos, de 13,4%, em 1960-1962, para 35,1%, em 2005-2006, e da obesidade extrema (IMC \geq 40) de 0,9% para 6,2% no mesmo período³. O excesso de consumo calórico e um estilo de vida sedentário são os únicos fatores de risco reconhecidos para a obesidade e Diabetes Mellitus tipo 2 (DM 2), mas por si explicam a atual epidemia mundial de obesidade⁸. Propõe-se que o *stress*, alterações imunológicas, défice de micronutrientes e modificações na genética predisponham a obesidade, mas o genoma humano não sofreu alterações significativas ao longo dos últimos anos⁸. A obesidade está associada a DM2, dislipidémias, doenças cardiovasculares, cancro, apneia obstrutiva do sono⁸, síndrome dos ovários poliquísticos e entre outras alterações da fertilidade^{1,3}. Os tratamentos médicos são muitas vezes ineficazes e a cirurgia bariátrica é a única modalidade terapêutica disponível associada a resultados clinicamente significativos⁸.

Em Portugal, sabe-se que o aumento da obesidade parece ter abrandado nos últimos anos e que existe uma distribuição desigual entre os diferentes grupos socioeconómicos⁶⁷. Os dados mais recentes sobre a prevalência da obesidade em adultos sugerem que cerca de 1 milhão de portugueses sofra de obesidade e 3,5 milhões de pré-obesidade⁶⁷.

A. Estudos Epidemiológicos – Exposição

Estudos encontraram uma correlação positiva entre a concentração de xenobióticos no tecido adiposo com o índice de massa corporal(IMC)¹. A concentração de metabolitos dos PAHs na urina, agentes cancerígenos conhecidos, e metabolitos de naftaleno foram associados com maior IMC e obesidade em crianças entre os 6 e os 11 anos de idade e, em menor grau, em a adolescentes⁷⁰. Os PAHs podem entrar no corpo humano de diversas formas, entre elas a inalação de fumo de cigarros, fumo de escape dos veículos e combustíveis fósseis processados, ingestão de carnes grelhadas e carbonizadas, água e leite de vaca contaminado⁷⁰. A exposição a BPA⁸⁴, assim como, a sua concentração na urina foi associada com o excesso de peso em crianças em idade escolar^{71, 72}, contudo o aumento das concentrações de BPA em mães durante a gravidez foi associado com a diminuição do IMC e gordura corporal da filhas⁷². A exposição a BPA intrauterina parece também estar relacionada com a preferência por doces⁸⁰. Exposição intrauterina a baixas doses 17β-estradiol-dose foi relacionada com alterações do peso e composição corporal⁷⁷. A exposição a metais⁸², oxíclorodane, DDT⁸³, alquifenois, compostos polifluoraquil e a retardantes de chama ftalatos³¹ também foi correlacionada com o aumento da obesidade nos expostos.

B. Estudos laboratoriais – Mecanismos

O corpo está protegido contra a acumulação de substâncias tóxicas através da expressão de enzimas e transportadores que as metabolizam⁸. Esta resposta adaptativa incorpora pelo menos três recetores nucleares de pregnano: X (PXR), recetor de androstano constitutivo (CAR), e AhR, bem como sistemas metabólicos e transportadores xenobióticos⁸. PXR e CAR são membros da superfamília de recetores nucleares e contribuem para o metabolismo dos ácidos gordos, lípidos e glucose^{8,31}. O CAR parece ser um importante recetor contra a obesidade⁸. Ligantes endógenos de PXR e CAR incluem derivados alguns de ácidos biliares,

pregnanos, metabólitos de androstano e outros produtos metabólicos dos esteróides⁸. AhR é um xenosensor, que afeta indiretamente a adiponogênese através da inibição do PPAR γ ^{8,31}. Este recetor parece mediar os efeitos tóxicos de dioxinas, fitoquímicos dietéticos, alguns PCB e TCDD⁸). Os mecanismos através dos quais AhR regula o metabolismo de energia não estão claramente definidos, no entanto, parece existir um *crosstalk* com os ER^{8,31}. Uma série de EDs ativa tanto PXR e CAR: NP, *Bis(2-ethylhexyl) phthalate* (DEHP), *Mono-2-ethyl-5-hydroxyhexyl phthalate* (MEHP), BPA, PCBs, PFOS, PFOA e o metoxicloro organoclorado⁸. Os efeitos dos EDs no tecido adiposo são muitas vezes dependentes do sexo^{76,84}.

A dirupção metabólica pode ocorrer por três tipos de atividade:

- Alteração da expressão de recetores de glucocorticoides^{8,31,73,75,79,85}, essencial para diferenciação do adipócito⁷³. Temos como exemplos os fungicida⁷³, parabenos⁷⁵, DES⁷⁹, BPA, ftalatos, endrino e tolilfluanido⁸⁵;

- Alteração da expressão do recetor pregnane X^{8,31,74,75,76,78,79}. Alguns EDs que mostraram este tipo de atividade são os DEHP⁷⁴, parabenos⁷⁵, MEHP⁷⁶, NP⁷⁸ e DES⁷⁹.

- Alteração da atividade dos recetores de estrogénios, que regulam o transporte de glucose, a glicólise, a atividade e a estrutura das mitocôndrias e oxidação de ácidos gordos^{8,31,78,79}. O DES⁷⁹ e 4-NP⁷⁸ são EDs com efeitos na obesidade mediados por estes recetores.

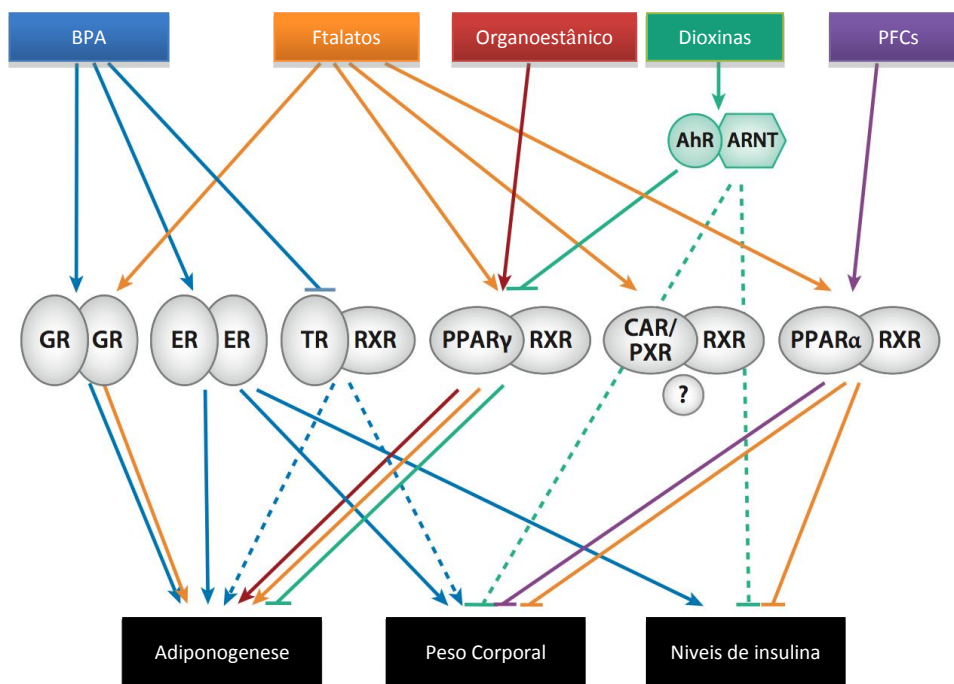


Figura 8 – Locais de atuação dos diferentes EDs na obesidade adaptado de *Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption*.³¹

5.3 Disfunção da tiróide

A tiróide é essencial para o desenvolvimento normal do cérebro, para o controlo do metabolismo e para muitos aspetos da fisiologia normal do adulto¹. Os principais componentes deste órgão são as hormonas Tiroxina (T4) e, a fisiologicamente ativa, triiodotironina (T3)³. Estas hormonas têm também um papel no envelhecimento²¹. A deficiência da função deste órgão pode conduzir a diversas patologias³, como por exemplo do neurodesenvolvimento, quando a exposição ocorre durante a vida intrauterina ou na infância, ou, ou a patologias do crescimento e desenvolvimento sexual, quando a exposição ocorre na pré adolescência ou puberdade²⁵. Foram observados para algumas substâncias efeitos transgeracionais²⁵.

Durante o primeiro trimestre o embrião está dependente da mãe para as necessidades de tiroxina, tendo estudos revelado que mesmo níveis marginais de tiroxina em mulheres

grávidas podem resultar num défice cognitivo do feto²⁵. Muitos produtos químicos e substâncias naturais podem interferir com a função da tiróide, agindo em diferentes pontos de regulação das hormonas, género dependente^{1,87}. A dirupção da função da tiróide pode ocorrer em vários níveis^{1,3,25}, mas ocorre principalmente através da regulação concentração de ligando do pré-receptor³.

Os dados combinados de estudos em humanos e observações experimentais fornecem evidência sólida de que os PCBs e dioxinas afetam negativamente a função da tiróide por interferência com o transporte e metabolismo^{25, 91, 94, 95, 96, 97, 98, 100, 103, 107}. A carga corporal PCB está associada com menor QI em grande escala, memória reduzida, diminuição do reconhecimento visual, défices de atenção e défices motores^{1, 94}.

Foram implicadas em estudos animais ou humanos como EDs disruptores da tiróide: produtos químicos perfluorados (PFC, PFOA, PFOS)^{1,25,92,104,105, 108, 110, 113}, os retardadores de chama (TBBPA, PBDEs e PBB), pesticidas organofosforados (carbamatos, piretróides, DDT, DDE, HCBNP²⁵); organoclorados⁸⁷, metaloclor¹¹², BPA^{25,93}, os filtros UV (4-MBC, MAC, BP2, BP3), os ftalatos (DBP)²⁵, clorato, tiocianato, nitratos, PTU¹, isoflavonoides, dioxinas¹, fungicida (etilenobisditiocarbamato)⁸⁹, HEX, TEB⁹⁰, mancozeb¹¹¹, tiacianeto (constituente do tabaco)¹ e inseticida Fipronil⁹⁹.

A. Mecanismos de Ação

Os EDs disruptores da tiroide podem atuar por diversos mecanismos:

- Ligação direta à proteína de transporte de transtirretina (TTR) deslocando a ligação do ligando natural – por exemplo o retardador de chama (TBBPA)²⁵, PBDE²⁵, PFOA ou PFOS^{25, 104}, BPA, BP2^{25, 3}, PCB⁹¹.

- Canal cotransportador de iodo e sódio – por exemplo o PBDE²⁵, ftalatos²⁵, perclorato,^{1, 25} clorato, tiocianato e nitratos.¹

- Ligação ao recetor da hormona tiroideia (TR) e modulação da expressão de genes - BPA ^{25, 93, 102}, ftalatos ²⁵, BPDES^{1, 109}, HEX e TEB ⁹⁰. Este efeito pode implicar diferentes caminhos celulares: TTFs, NF-kB, e caminhos RAR / RXR. ^{93, 96}

- Bloqueio da enzima tireoperoxidase (TPO) que controla organificação de iodo ²⁵ - o 6- propil-2-tiouracil (PTU). ³

- Indução de enzimas hepáticas envolvidas na glucoronidação, como deiodinase do fígado (converte T4 em T3) e Ahr ou pregnano X que reduzem a semivida no soro de T4 ¹ - PBDE ²⁵; PFOA ou PFOS ^{25, 104}, Metoxicloro²⁵, 4-MBC ²⁵, dioxinas ²⁵, halogenados ³, PCB ⁹⁸.

- Redução dos níveis de TH, aumentando a excreção biliar de T4 devido à indução da UDP-glucuroniltransferases, organohalogenados ³.

B. Patologias

a. Neurodesenvolvimento:

Nas últimas décadas, foi observado um aumento da prevalência das doenças do neurodesenvolvimento, nomeadamente do espectro do autismo e da perturbação de atenção e défice hiperatividade, não explicada totalmente pela maior taxa de diagnóstico ²². Estudos evidenciaram distúrbios cognitivos e comportamentais em crianças e fetos expostos a chumbo, mercúrio, ftalatos, dialfosfacto, pesticidas, BPA, PCB, PBDE e PBB ^{20, 22, 24}. Pensa-se que estes distúrbios possam ser consequência de EDs com capacidade de modular a atividade genómica e os mecanismos epigenéticos.²²

Em Portugal, não existe registo oficial da prevalência destas doenças nem foram realizados estudos.

b. Diferenciação Sexual

Os efeitos dos EDs na reprodução está amplamente documentado em invertebrados e vertebrados marinhos e terrestres (34). Estudos epidemiológicos e laboratoriais reportaram

alterações no comportamento sexual e na diferenciação sexual animais^{20, 24, 33, 41} e feminização e alteração do comportamento de acasalamento^{24, 33}. Foi reportada feminização em homens que trabalhavam numa fábrica com exposição a BPA³³. O sexo masculino pelas suas características fisiológicas aparenta estar mais vulnerável a este tipo de disrupção²⁴. *Em Portugal*, não existem estudos, mas há evidência de disrupção tiroideia em animais^{52, 54}.

Discussão

Os EDs são um tema polémico e controverso. As opiniões divergem, havendo cientistas que não valorizam esta temática, e outros que pensam que os EDs são a causa da maioria das doenças de etiologia mal esclarecida. Os dados científicos apoiam esta última hipótese, mas, tal como a descoberta do genoma humano, a descoberta destas substâncias é como a identificação de um grão de areia no deserto. Apurar os efeitos dos EDs é extremamente complexo, cada ED atua em várias concentrações de forma não linear. Em cada concentração, eles atuam por vários mecanismos e em vários tecidos em simultâneo. Assim, os efeitos dependem da dose, da espécie, das características genéticas do organismo, do sexo, do tecido, da idade do organismo e do tipo de exposição (aguda ou crónica). Estas substâncias podem também atuar isoladamente ou em conjunto. Sumariamente, cada ED pode causar várias doenças/distúrbios e cada doença/distúrbio pode ser provocada por vários EDs. Pela complexidade do tema é compreensível que seja difícil estabelecer uma relação de associação e, mais difícil ainda, de causalidade entre uma doença e uma substância ou mistura. A comunidade científica concorda que são ainda necessários dados epidemiológicos, estudos epidemiológicos e laboratoriais para estabelecer com algum grau de certeza uma associação válida.

Os dados epidemiológicos indicam o aumento ou diminuição da incidência e prevalência de doença, mas podem ou não representar verdadeiras flutuações na incidência/

prevalência dada a existência de fatores confundidores. O aumento de doença pode ser resultado de um maior número de diagnósticos, melhor tratamento, maior esperança de vida, estilo de vida sedentário, hábitos alimentares errados ou melhor registo por parte das autoridades de saúde. No entanto, estes dados podem ser o primeiro indício de atividade disruptora numa dada área. Não devem ser desvalorizados, sendo sobretudo importantes quando existem diferenças regionais, doença em faixas etárias normalmente saudáveis ou entre grupos específicos da população, como imigrantes, vegetarianos ou profissões onde existe ou ocorreu exposição crónica a químicos. O aumento de doença endócrino-mediadas em idades superiores a 55 anos é facilmente atribuído ao estilo de vida, hábitos alimentares e envelhecimento, no entanto o mesmo não pode ser inferido quando os indivíduos têm 5 anos. Outro exemplo, é aumento de doença em ambientes seleccionados, devendo este dado ser mais valorizado, que dados sobre o mesmo tema a nível continental. Por exemplo, imaginado que ocorreria o aumento de doença em médicos do serviço de endocrinologia dos hospitais do país, este poderia indicar que estes contactam com uma substância com mais frequência do que o resto da população e que poderá ser esta que está a causar doença.

Em casos raros de exposição maciça, uma relação causa efeito entre um ED e uma patologia pode ser estabelecida, por exemplo, a contaminação por dioxinas na guerra do Vietname. Os estudos epidemiológicos em animais e humanos podem fornecer informações de relações de associação entre a exposição a uma substância e um dado ED. Sendo a água a substância mais contaminada por EDs, as espécies selvagens aquáticas são particularmente sensíveis no caso de existência de disrupção, sendo as primeiras a desenvolver doenças e, por isso, o aparecimento de doenças endócrino-mediadas nestas espécies nunca deve ser ignorado. Contudo, a validade destes estudos é limitada pela latência dos efeitos característicos dos EDs. Um dado ED pode só induzir a doença, quer por mecanismos epigenéticos quer bioacumulação nos tecidos, muito anos após a exposição e, por isso podem já não existir no

ambiente no momento do estudo. As relações tiradas podem portanto estar erradas, havendo o risco de atribuir a causa de uma dada doença a uma substância que, apenas por acaso, no momento do estudo estava a ser produzida em grande massa. Outro viés de confundimento é o facto de os EDs poderem atuar aditivamente ou sinergicamente, sendo necessário saber, não só as substâncias individuais a que as populações estão direta ou indiretamente expostas, mas também as misturas de substâncias que atuam como um único ED, nomeadamente rios, solos e ar. Este tipo de monitorização é extremamente complicado que a nível técnico que a nível económico. Os efeitos das misturas de substâncias estão muito pouco estudados, apesar de este ser o tipo de exposição mais prevalente. Estas misturas variam de região para região, logo, é necessária precaução na extrapolação de resultados entre diferentes áreas geográficas. As características genéticas da população são também um determinante no efeito de um ED, por isso, é preciso cautela na extrapolação de resultados para populações maiores, como por exemplo a extrapolação de resultados obtidos nas ilhas dos Açores para o Portugal continental, pois esta é uma das regiões com maior nível de consanguinidade em Portugal.

Os estudos laboratoriais em animais ou células humanas são uma mais-valia na determinação do mecanismo pelo qual o EDs pode provocar doença e na determinação de dose, única ou cumulativa, nefasta. Contudo, os estudos em células humanas não equacionam as múltiplas interações entre os distintos órgãos e entre estes e o ambiente e, por isso, os efeitos observados podem não ocorrer no organismo humano ou efeitos os presentes no ser humano podem não ser evidenciados nestes estudos. Os estudos animais permitem ter uma visão preferível destas interações, mas cada espécie é única, quer geneticamente, quer nas suas interações e por isso, é preciso prudência na extrapolação dos resultados para espécie humana. Na tentativa de diminuir estas diferenças entre espécies, têm sido estudados modelos animais para estudar os efeitos dos EDs em cada órgão, no entanto, ainda não existe conformidade na escolha do melhor modelo animal. Outro grande problema nos estudos

laboratoriais é existência de metodologias muito díspares para avaliar os efeitos do mesmo EDs, o que limita a sua reprodutibilidade e validade.

Que existem EDs e que estes são capazes de atuar em moléculas biológicas por mecanismos endócrinos são factos. Que estes podem levar a alterações que aumentam a suscetibilidade para doenças cancerígenas, neurológicas, tiroideias, metabólicas e da reprodução é uma verdade cientificamente provada. No entanto, não se sabe até que ponto este aumento da suscetibilidade se vai refletir realmente num aumento no número de casos destas doenças. Atualmente, desconhece-se qual a percentagem de doença que é causada por eles, pois o natural é ter doença. Parece no entanto existir uma relação forte entre a exposição a EDs e o desenvolvimento de cancro da mama e obesidade. Já os efeitos sobre a tiroide não estão bem caracterizados. Porém os efeitos que são particularmente alarmante são os que podem afetar a diferenciação sexual e o neurodesenvolvimento, pois estes são distúrbios dificilmente tratáveis e que poderão estar a por em risco a sobrevivência da espécie humana. Para se averiguar se realmente a diferenciação sexual está realmente a ser afetada seria necessário realizar estudos que avaliassem o comportamento sexual de uma dada população e verificar a existência de alguma alteração anómala. Estes estudos, apesar de extremamente informativos, são difíceis de executar por questões éticas e sociais. Muitas questões permanecem sem resposta, nomeadamente qual a dose nefasta e em que populações. O estudo perfeito seria um estudo comparativo de duas populações geneticamente semelhantes, uma com estilo de vida igual ao observado na população presente, e outra sem história ou contacto com EDs, num ambiente sem nenhum contacto com estes. No entanto, tal estudo é utópico e impossível, portanto existirá sempre um grau de incerteza no que diz respeito a este assunto. Por isso, os estudos mais próximos deste modelo são estudos em crianças, pois estas são um grupo em que a doença sempre foi mais agressiva e, portanto, os registos de doença, nomeadamente, de cancro, são mais assertivos, pois o aumento de

doenças-endócrino mediadas em crianças são sinal major de disrupção. No entanto, a realização destes estudos encarrega também problemas éticos. No entanto, atendendo ao facto de que cada vez existe maiores recursos médicos para o tratamento de doenças e que as pessoas cada vez mais têm filhos mais tarde, o aumento de doença, pode dever-se, não á atividade endócrina, mas sim ao aumento de progenitores que anteriormente não procriariam por doença em idade fértil. Existe um equilíbrio fino entre o biologicamente bom, normal e prejudicial. Os EDs interagem com múltiplos processos fisiológicos. Alguns EDs, como o magnésio, são compostos importantes no nosso organismo e outros, como alguns fitoestrogenios, têm propriedades antioxidantes, efeito supostamente benéfico na saúde, sendo que assim, podemos colocar a hipótese que alguns EDs, sobretudo os naturais, possam ser, em determinadas doses, benéficos, contrariamente ao esperado. Outra questão ainda não analisada é a possibilidade da utilização de alguns destes compostos de maneira a regular uma patologia endócrino-mediada ED-independente.

Em Portugal só existe informação para algumas doenças endócrino mediadas e os estudos que existem estabelecem sobretudo associação com hábitos alimentares pouco saudáveis e estilo de vida sedentários. Não existe documentação oficial sobre a prevalência de algumas doenças, como por exemplo hiperatividade e défice de atenção, nem estudos que correlacionem as doenças endócrino-mediadas com EDs. Existem alguns estudos epidemiológicos em animais, sobretudo aquáticos, que associam a exposição a EDs a alterações na saúde destes, no entanto, estes efeitos podem não ser diretamente extrapoláveis para a população portuguesa pelo exposto previamente. As alterações observadas podem dever-se a poluição generalizada e não serem efeitos específicos dos EDs.

Posto tudo isto tudo, como nos podemos defender dos EDs? Através do controlo de substâncias emitidas para o ambiente e prevenção da exposição. Idealmente, os químicos fabricados deveriam ser limitados e regulados mais rigidamente, no entanto isto não é viável,

pois a indústria química têm uma multiplicidade aplicações e, como tal, leis restritivas iriam acarretar custos diretos na economia e subsistência da população e ainda custos indiretos em empregos (por exemplo através do fechos de fábricas). Por outro lado, as técnicas atualmente disponíveis para remoção de químicos não são totalmente eficazes e, por isso, a sua remoção, além de mais dispendiosa que a sua restrição, poderá não ser completa ser. Como não existem estudos comparativos do custo-benefício entre a legislação de químicos, remoção de químicos e tratamento de doença nada pode ser feito de momento a nível comunitário. O tratamento de doenças endócrino-mediadas é por norma sintomático, por isso, para nos defendermos destas substâncias temos que apostar na prevenção primária, diminuindo exposição e o contacto a EDs sempre que possível, sobretudo nos períodos críticos de desenvolvimento do organismo, como a gravidez e infância, através das seguintes medidas:

- Educarmo-nos e educar outros sobre a temática;
- Ter a perceção que os efeitos dos EDs variam de acordo com os polimorfismos individuais e que portanto, o risco igual não é para toda gente;
- Lavar as mãos antes de comer;
- Ler sempre os rótulos das comidas e das embalagens, tendo em atenção os aditivos da comida e os constituintes das embalagens. Consumir de preferência os produtos cujas embalagens e os constituintes tenham a menor quantidade de químicos de qualquer categoria;
- Preferir o uso de utensílios/objetos de madeira, porcelana, aço inoxidável ou vidro. Não esquecer que produtos como cartão têm, por norma, menor número de EDs, mas podem ser revestidos por químicos, podendo ter mais EDs do que os esperados (por exemplo papel reciclado e papeis brilhantes);
- Evitar molhos sintéticos, por exemplo fazendo maioneses em casa;

- Reduzir o consumo de produtos de animais ricos em gorduras, nomeadamente leite e derivados, pois os EDs têm características lipofílicas e bioacumulam-se;
- No armazenamento de comida e bebida evitar plásticos;
 - A água deve ser armazenada em garrafas de vidro ou aço inoxidável quando for necessário levar para fora, por exemplo no campismo;
 - Guardar e aquecer a comida em recipientes de papel, cerâmica ou vidro;
 - Evitar beber bebidas quentes em copos de plásticos, por exemplo café das máquinas de venda automática (existentes em diversos locais, como por exemplo hospitais), pois o copo, a colher e a própria máquina é de plástico, e os EDs migram para o café pela elevada temperatura;
 - Descartar utensílios de plástico lascados ou arranhados e evitar lavá-los com detergentes fortes ou colocá-los na máquina de lavar louça;
- Evitar o consumo de comida processada;
 - Preferir fruta e vegetais frescos ou congelados;
 - Comprar de preferência feijão seco;
 - Beber e comer em vidro/cerâmica e não por latas/pratos de plásticos;
 - Amamentar ou usar fórmulas de leite em pó;
- Evitar peixe contaminado com mercúrio, dioxinas, e PCB;
 - Retirar toda gordura do peixe para evitar exposição a estas substâncias;

- Escolher peixes pequenos que não sejam predadores (peixes predadores: salmão, perca, truta, tilápia, peixe branco, entre outros);
- Evitar a exposição a pesticidas/herbicidas;
 - Optar por alimentos orgânicos sempre que possível, sobretudo a carne e produtos lácteos;
 - Lavar bem os alimentos e cozinhá-los, para reduzir produtos agrotóxicos;
 - Não usar pesticidas/herbicidas no quintal e em animais;
- Evitar a exposição a retardantes de chama;
 - Limpar o pó com pano húmido para não dispersar as partículas contaminadas;
 - Comprar eletrodomésticos e móveis com o menor grau deste tipo de substâncias;
- Evitar a exposição a produtos de higiene pessoal, cosméticas e roupa;
 - Preferir roupa de materiais naturais;
 - Preferir produtos naturais;
- Evitar a exposição de crianças aos EDs;
 - Preferir brinquedos feitos de materiais naturais: algodão e madeira, entre outros, pois os bebés tendem a mordê-los;
- Arejar a casa sempre que possível e evitar fontes de fumo;
- Fazer limpezas ou pintar com máscara, luvas e calçado apropriado;
- Evitar materiais tóxicos na limpeza da casa, loiça e roupa;

Conclusão

Os dados sobre os efeitos dos disruptores endócrinos na saúde humana são inconsistentes e inconclusivos, sendo impossível afirmar que a exposição a um dado ED é responsável por uma dada patologia no humano, com exceção dos grandes desastres com químicos descritos na história da humanidade. No entanto, há evidência crescente que estes estão envolvidos na etiologia de muitas doenças/distúrbios do homem, como cancro, malformações congénitas, distúrbios da reprodução, doenças imunológicas, neurológicas, metabólicas e da tiroide. Além disso, artigos publicados permitem afirmar que os EDs têm efeitos nefastos nos animais.

O conhecimento sobre os mecanismos, doses e efeitos das misturas de EDs é, ainda, incompleto, recomendando-se o estudo padronizado, através de protocolos definidos internacionalmente, de modo a informação ser facilmente comparável, replicável e validada.

Os EDs são um problema de saúde pública pela elevada morbidade e mortalidade associadas às doenças endócrino-mediadas e também pelos elevados custos económicos. Não é de desvalorizar a sua remoção dos produtos contaminados. Aconselha-se a realização de uma legislação mais rígida, que controle a introdução de novas substâncias no mercado, a utilização destas substâncias e a eliminação dos resíduos industriais e agrícolas. Esta deve ainda ser acompanhada de programas regionais de monitorização da atividade de EDs, por exemplo através da monitorização de espécies considerada bons bioindicadores, como os moluscos da costa portuguesa.

O Médico, pela sua proximidade à população, como autoridade no campo da saúde e promotor de um estilo de vida saudável, têm um papel de destaque na sensibilização da população para este tema. Deve, por isso, alertar os seus doentes para existência de disruptores e educa-los no sentido de reduzir a exposição a EDs, sobretudo de mulheres em idade fértil, grávidas e crianças.

Em Portugal, as doenças endócrino-mediadas estão aparentemente a aumentar e os EDs são ubiqüitários nos diversos rios estudados. Todavia, não existem estudos que avaliem a associação entre a presença destes no ambiente e o aumento de doenças, por isso aguardamos que no futuro mais estudos sejam realizados.

Agradecimentos

Agradeço à Dr.^a Maria Margarida Santos Antunes Catarino Bastos Ferreira, Professora Doutora Maria Leonor Viegas Gomes, ao Serviço de Endocrinologia do CHUC, ao Serviço da Biblioteca do CHUC e Pólo 3, assim como à minha família por toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Referências

¹ Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT, Gore AC. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev.* 2009;30(4):293-342.

² Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, Jacobs DR Jr, Lee DH, Shioda T, Soto AM, vom Saal FS, Welshons WV, Zoeller RT, Myers JP. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev.* 2012;33(3):378-455.

³ De Coster S, van Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. *J Environ Public Health.* 2012.

⁴ Bergman Á, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT. State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals 2012 [e-book]. 1st ed. WHO Library Cataloguing-in-

Publication Data; 2012 [cited 2013]. Available from:
www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/

⁵ Nohynek GJ, Borgert CJ, Dietrich D, Rozman KK. Endocrine disruption: fact or urban legend?. *Toxicol Lett.* 2013;223(3):295-305.

⁶ Vanhees K, Vonhögen IG, van Schooten FJ, Godschalk RW. You are what you eat, and so are your children: the impact of micronutrients on the epigenetic programming of offspring. *Cell Mol Life Sci.* 2014;71(2):271-85.

⁷ Ho SM, Johnson A, Tarapore P, Janakiram V, Zhang X, Leung YK. Environmental epigenetics and its implication on disease risk and health outcomes. *ILAR J.* 2012 Dec;53(3-4):289-305.

⁸ Lubrano C, Genovesi G, Specchia P, Costantini D, Mariani S, Petrangeli E, Lenzi A, Gnassi L. Obesity and metabolic comorbidities: environmental diseases?. *Oxid Med Cell Longev.* 2013.

⁹ Knez J. Endocrine-disrupting chemicals and male reproductive health. *Reprod Biomed Online.* 2013;26(5):440-8.

¹⁰ Macon MB, Fenton SE. Endocrine disruptors and the breast: early life effects and later life disease. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2013;18(1):43-61.

¹¹ Doherty LF, Bromer JG, Zhou Y, Aldad TS, Taylor HS. In utero exposure to diethylstilbestrol (DES) or bisphenol-A (BPA) increases EZH2 expression in the mammary gland: an epigenetic mechanism linking endocrine disruptors to breast cancer. *Horm Cancer.* 2010;1(3):146-55.

¹² Yang L, Luo L, Ji W, Gong C, Wu D, Huang H, Liu Q, Xia B, Hu G, Zhang W, Zhang Q, Liu J, Zhang W, Zhuang Z. Effect of low dose bisphenol A on the early differentiation of human embryonic stem cells into mammary epithelial cells. *Toxicol Lett.* 2013;218(3):187-93.

- ¹³ DiVall SA. The influence of endocrine disruptors on growth and development of children. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013;20(1):50-5.
- ¹⁴ Lee HR, Choi KC. 3,4-tert-Octylphenol stimulates the expression of cathepsins in human breast cancer cells and xenografted breast tumors of a mouse model via an estrogen receptor-mediated signaling pathway. *Toxicology.* 2013;304:13-20.
- ¹⁵ Mezcua M, Martínez-Uroz MA, Gómez-Ramos MM, Gómez MJ, Navas JM, Fernández-Alba AR. Analysis of synthetic endocrine-disrupting chemicals in food: a review. *Talanta.* 2012;100:90-106.
- ¹⁶ Rogers JA, Metz L, Yong VW. Review: Endocrine disrupting chemicals and immune responses: a focus on bisphenol-A and its potential mechanisms. *Mol Immunol.* 2013;53(4):421-30.
- ¹⁷ Viñas R, Jeng YJ, Watson CS. Non-genomic effects of xenoestrogen mixtures. *Int J Environ Res Public Health.* 2012;9(8):2694-714.
- ¹⁸ Xu X, Dailey AB, Talbott EO, Ilacqua VA, Kearney G, Asal NR. Associations of serum concentrations of organochlorine pesticides with breast cancer and prostate cancer in U.S. adults. *Environ Health Perspect.* 2010;118(1):60-6.
- ¹⁹ Fucic A, Gamulin M, Ferencic Z, Katic J, Kraymer von Krauss M, Bartonova A, Merlo DF. Environmental exposure to xenoestrogens and oestrogen related cancers: reproductive system, breast, lung, kidney, pancreas, and brain. *Environ Health.* 2012.
- ²⁰ Unüvar T, Büyükgebiz A. Fetal and neonatal endocrine disruptors. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012;4(2):51-60.
- ²¹ Weiss B. The intersection of neurotoxicology and endocrine disruption. *Neurotoxicology.* 2012;33(6):1410-9.

²² de Cock M, Maas YG, van de Bor M. Does perinatal exposure to endocrine disruptors induce autism spectrum and attention deficit hyperactivity disorders? Review. *Acta Paediatr.* 2012;101(8):811-8.

²³ Fenton SE, Reed C, Newbold RR. Perinatal environmental exposures affect mammary development, function, and cancer risk in adulthood. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2012;52:455-79.

²⁴ Frye CA, Bo E, Calamandrei G, Calzà L, Dessì-Fulgheri F, Fernández M, Fusani L, Kah O, Kajta M, Le Page Y, Patisaul HB, Venerosi A, Wojtowicz AK, Panzica GC. Endocrine disruptors: a review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behaviour and neuroendocrine systems. *J Neuroendocrinol.* 2012;24(1):144-59.

²⁵ Boas M, Feldt-Rasmussen U, Main KM. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;355(2):240-8.

²⁶ Dey S, Soliman AS, Hablas A, Seifeldein IA, Ismail K, Ramadan M, El-Hamzawy H, Wilson ML, Banerjee M, Boffetta P, Harford J, Merajver SD. Urban-rural differences in breast cancer incidence in Egypt (1999-2006). *Breast.* 2010;19(5):417-23

²⁷ Touraud E, Roig B, Sumpter JP, Coetsier C. Drug residues and endocrine disruptors in drinking water: risk for humans? *Int J Hyg Environ Health.* 2011;214(6):437-41.

²⁸ Villeneuve S, Cyr D, Lynge E, Orsi L, Sabroe S, Merletti F, Gorini G, Morales-Suarez-Varela M, Ahrens W, Baumgardt-Elms C, Kaerlev L, Eriksson M, Hardell L, Févotte J, Guénel P. Occupation and occupational exposure to endocrine disrupting chemicals in male breast cancer: a case-control study in Europe. *Occup Environ Med.* 2010;67(12):837-44.

²⁹ Özen S, Darcan Ş. Effects of environmental endocrine disruptors on pubertal development. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2011;3(1):1-6.

- ³⁰ .J St. Endocrine disrupting chemicals and other substances of concern in food contact materials: an updated review of exposure, effect and risk assessment. *Endocrinol Biochem Mol Biol.* 2011;127(1-2):118-27.
- ³¹ Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol.* 2011;73:135-62.
- ³² Soto AM, Sonnenschein C. Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nat Rev Endocrinol.* 2010;6(7):363-70.
- ³³ Tilghman SL, Nierth-Simpson EN, Wallace R, Burow ME, McLachlan JA. Environmental hormones: Multiple pathways for response may lead to multiple disease outcomes. *Steroids.* 2010;75(8-9):520-3.
- ³⁴ Wuttke W, Jarry H, Seidlova-Wuttke D. Definition, classification and mechanism of action of endocrine disrupting chemicals. *Hormones (Athens).* 2010;9(1):9-15.
- ³⁵ Bidgoli SA, Korani M, Bozorgi N, Zavarhei MD, Ziarati P, Akbarzadeh S. Association between glycodeclin and aryl hydrocarbon receptor in Iranian breast cancer patients: impact of environmental endocrine disrupting chemicals. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(9):2431-5.
- ³⁶ Muncke J. Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain: Is packaging a relevant source?. *Sci Total Environ.* 2009;407(16):4549-59.
- ³⁷ Iavicoli I, Fontana L, Bergamaschi A. The effects of metals as endocrine disruptors. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2009;12(3):206-23.
- ³⁸ Rahman MF, Yanful EK, Jasim SY. Endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the aquatic environment: implications for the drinking water industry and global environmental health. *J Water Health.* 2009(2):224-43.

³⁹ Mantovani A, Frazzoli C, La Rocca C. Risk assessment of endocrine-active compounds in feeds. *Vet J.* 2009;182(3):392-401.

⁴⁰ Tavares RS, Mansell S, Barratt CL, Wilson SM, Publicover SJ, Ramalho-Santos J. p,p'-DDE activates CatSper and compromises human sperm function at environmentally relevant concentrations. *Hum Reprod.* 2013;28(12):3167-77.

⁴¹ Marques-Pinto A, Carvalho D. Human infertility: are endocrine disruptors to blame? *Endocr Connect.* 2013;2(3):R15-29.

⁴² Alves MG, Oliveira PF. Effects of non-steroidal estrogen diethylstilbestrol on pH and ion transport in the mantle epithelium of a bivalve *Anodonta cygnea*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2013;97:230-5.

⁴³ Pestana D, Teixeira D, Faria A, Domingues V, Monteiro R, Calhau C. Effects of environmental organochlorine pesticides on human breast cancer: Putative involvement on invasive cell ability. *Environ Toxicol.* 2013.

⁴⁴ Ferreira-Dias G, Botelho M, Zagrajczuk A, Rebordão MR, Galvão AM, Bravo PP, Piotrowska-Tomala K, Szóstek AZ, Wiczkowski W, Piskula M, Fradinho MJ, Skarzynski DJ. Coumestrol and its metabolite in mares plasma after ingestion of phytoestrogen-rich plants: potent endocrine disruptors inducing infertility. *Theriogenology.* 2013;80(6):684-92.

⁴⁵ Rocha MJ, Cruzeiro C, Reis M, Rocha E, Pardal M. Determination of seventeen endocrine disruptor compounds and their spatial and seasonal distribution in Ria Formosa Lagoon (Portugal). *Environ Monit Assess.* 2013;185(10):8215-26.

⁴⁶ Alves MG, Neuhaus-Oliveira A, Moreira PI, Socorro S, Oliveira PF. Exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid alters glucose metabolism in immature rat Sertoli cells. *Reprod Toxicol.* 2013;38:81-8.

⁴⁷ Gonzalez-Rey M, Bebianno MJ. Does selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) fluoxetine affects mussel *Mytilus galloprovincialis*?. *Environ Pollut.* 2013;173:200-9.

⁴⁸ Ribeiro-Varandas E, Viegas W, Sofia Pereira H, Delgado M. Bisphenol A at concentrations found in human serum induces aneugenic effects in endothelial cells. *Mutat Res.* 2013 Feb 18;751(1):27-33.

⁴⁹ Silva CP, Otero M, Esteves V. Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water: a review. *Environ Pollut.* 2012;165:38-58.

⁵⁰ Gonzalez-Rey M, Bebianno MJ. Does non-steroidal anti-inflammatory (NSAID) ibuprofen induce antioxidant stress and endocrinedisruption in mussel *Mytilus galloprovincialis*? *Environ Toxicol Pharmacol.* 2012;33(2):361-71.

⁵¹ Mansilha C, Melo A, Ferreira IM, Pinho O, Domingues V, Pinho C, Gameiro P. Groundwater from infiltration galleries used for small public water supply systems: contamination with pesticides and endocrine disruptors. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2011;87(3):312-8.

⁵² Carvalho ES, Fuentes J, Power DM. Integument structure and function in juvenile *Xenopus laevis* with disrupted thyroid balance. *Gen Comp Endocrinol.* 2011;174(3):301-8.

⁵³ Cunha SC, Fernandes JO. Quantification of free and total bisphenol A and bisphenol B in human urine by dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) and heart-cutting multidimensional gas chromatography-mass spectrometry (MD-GC/MS). *Talanta.* 2010;83(1):117-25.

⁵⁴ Morgado I, Hamers T, Van der Ven L, Power DM. Disruption of thyroid hormone binding to sea bream recombinant transthyretin by ioxinyl and polybrominated diphenyl ethers. *Chemosphere.* 2007;69(1):155-63.

⁵⁵ Galante-Oliveira S, Oliveira I, Pacheco M, Barroso CM. *Hydrobia ulvae* imposex levels at Ria de Aveiro (NW Portugal) between 1998 and 2007: a counter-current bioindicator?. *J Environ Monit.* 2010;12(2):500-7

- ⁵⁶ Gomes T, Gonzalez-Rey M, Bebianno MJ. Incidence of intersex in male clams *Scrobicularia plana* in the Guadiana Estuary (Portugal). *Ecotoxicology*. 2009;18(8):1104-9.
- ⁵⁷ Palma P, Palma VL, Matos C, Fernandes RM, Bohn A, Soares AM, Barbosa IR. Assessment of the pesticides atrazine, endosulfan sulphate and chlorpyrifos for juvenoid-related endocrine activity using *Daphnia magna*. *Chemosphere*. 2009;76(3):335-40.
- ⁵⁸ Sousa A, Schönenberger R, Jonkers N, Suter MJ, Tanabe S, Barroso CM. Chemical and biological characterization of estrogenicity in effluents from WWTPs in Ria de Aveiro (NW Portugal). *Arch Environ Contam Toxicol*. 2010;58(1):1-8.
- ⁵⁹ Ribeiro C, Pardal MA, Tiritan ME, Rocha E, Margalho RM, Rocha MJ. Spatial distribution and quantification of endocrine-disrupting chemicals in Sado River estuary, Portugal. *Environ Monit Assess*. 2009;159(1-4):415-27.
- ⁶⁰ Bidgoli SA, Ahmadi R, Zavarhei MD. Role of hormonal and environmental factors on early incidence of breast cancer in Iran. 2010;408(19):4056-61.
- ⁶¹ Fernandez SV, Huang Y, Snider KE, Zhou Y, Pogash TJ, Russo J. Expression and DNA methylation changes in human breast epithelial cells after bisphenol A exposure. *Int J Oncol*. 2012;41(1):369-77.
- ⁶² Ribeiro C, Tiritan ME, Rocha E, Rocha MJ. Seasonal and spatial distribution of several endocrine-disrupting compounds in the Douro River Estuary, Portugal. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2009;56(1):1-11.
- ⁶³ Ribeiro C, Pardal MA, Martinho F, Margalho R, Tiritan ME, Rocha E, Rocha MJ. Distribution of endocrine disruptors in the Mondego River estuary, Portugal. *Environ Monit Assess*. 2009;149(1-4):183-93.

- ⁶⁴ Maurício R, Diniz M, Petrovic M, Amaral L, Peres I, Barceló D, Santana F.A characterization of selected endocrine disruptor compounds in a Portuguese wastewater treatment plant. *Environ Monit Assess.* 2006;118(1-3):75-87
- ⁶⁵ Mendes AJJ. The endocrine disruptors: a major medical challenge. *JJ Food Chem Toxicol.* 2002;40(6):781-8.
- ⁶⁶ Martina CA, Weiss B, Swan SH. Lifestyle behaviors associated with exposures to endocrine disruptors. *Neurotoxicology.* 2012;33(6):1427-33
- ⁶⁷ Pedro Graça P, Nogueira PJ, Silva AJ, Rosa MV, Alves MI, Afonso D, Portugal AC, Somsen E, Martins J, Serra L, Oliveira AL, Oliveira N. Portugal – Alimentação Saudável em números – 2013 [e-book]. Lisboa: Direção-Geral da Saúde; 2014 [cited 2014]. Available from: www.dgs.pt
- ⁶⁸ Oliveira ALS, Martins J. ELEMENTOS ESTATÍSTICOS SAÚDE / 2009-2010 [e-book]. 1nd ed. Lisboa: Direção-Geral da Saúde; 2010 [cited 2014]. Available from: www.dgs.pt
- ⁶⁹ Nogueira PJ, Costa AJ, Rosa MV, da Silva JR, Alves MI, Portugal AC, Serra L, Delmiro J. Estudo comparativo do número de óbitos e causas de morte da mortalidade infantil e suas componentes (2009-2012) [e-book]. 1nd ed. Lisboa: Direção-Geral da Saúde; 2013 [cited 2013]. Available from: www.dgs.pt
- ⁷⁰ Scinicariello F, Buser MC. Urinary Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Childhood Obesity: NHANES (2001-2006). *Environ Health Perspect.* 2014;122(3):299-303.
- ⁷¹ Li DK, Miao M, Zhou Z, Wu C, Shi H, Liu X, Wang S, Yuan W. Urine bisphenol-A level in relation to obesity and overweight in school-age children. *mPLoS One.* 2013;
- ⁷² Harley KG, Aguilar Schall R, Chevrier J, Tyler K, Aguirre H, Bradman A, Holland NT, Lustig RH, Calafat AM, Eskenazi B. Prenatal and postnatal bisphenol A exposure and

body mass index in childhood in the CHAMACOS cohort. *Environ Health Perspect.* 2013;121(4):514-20.

⁷³ Neel BA, Brady MJ, Sargis RM. The endocrine disrupting chemical tolylfluanid alters adipocyte metabolism via glucocorticoid receptor activation. *Mol Endocrinol.* 2013;27(3):394-406.

⁷⁴ Hao C, Cheng X, Guo J, Xia H, Ma X. Perinatal exposure to diethyl-hexyl-phthalate induces obesity in mice. *Front Biosci (Elite Ed).* 2013;5:725-33.

⁷⁵ Hu P, Chen X, Whitener RJ, Boder ET, Jones JO, Porollo A, Chen J, Zhao L. Effects of parabens on adipocyte differentiation. *Toxicol Sci.* 2013;131(1):56-70.

⁷⁶ Hao C, Cheng X, Xia H, Ma X. The endocrine disruptor mono-(2-ethylhexyl) phthalate promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. *Biosci Rep.* 2012;32(6):619-29.

⁷⁷ Werner Fürst R, Pistek VL, Kliem H, Skurk T, Hauner H, Meyer HH, Ulbrich SE. Maternal low-dose estradiol-17 β exposure during pregnancy impairs postnatal progeny weight development and body composition. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;263(3):338-44.

⁷⁸ Hao CJ, Cheng XJ, Xia HF, Ma X. The endocrine disruptor 4-nonylphenol promotes adipocyte differentiation and induces obesity in mice. *Cell Physiol Biochem.* 2012;30(2):382-94

⁷⁹ Hao CJ, Cheng XJ, Xia HF, Ma X. The endocrine disruptor diethylstilbestrol induces adipocyte differentiation and promotes obesity in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;263(1):102-10.

⁸⁰ Xu X, Tan L, Himi T, Sadamatsu M, Tsutsumi S, Akaike M, Kato N. Changed preference for sweet taste in adulthood induced by perinatal exposure to bisphenol A-A probable link to overweight and obesity. *Neurotoxicol Teratol.* 2011;33(4):458-63.

⁸¹ Qin XY, Zaha H, Nagano R, Yoshinaga J, Yonemoto J, Sone H. Xenoestrogens down-regulate aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator 2 mRNA expression in human breast cancer cells via an estrogen receptor alpha-dependent mechanism. *Toxicol Lett.* 2011;206(2):152-7.

⁸² Padilla MA, Elobeid M, Ruden DM, Allison DB. An examination of the association of selected toxic metals with total and central obesity indices: NHANES 99-02. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(9):3332-47.

⁸³ Elobeid MA, Padilla MA, Brock DW, Ruden DM, Allison DB. Endocrine disruptors and obesity: an examination of selected persistent organic pollutants in the NHANES 1999-2002 data. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7(7):2988-3005.

⁸⁴ Somm E, Schwitzgebel VM, Toulotte A, Cederroth CR, Combescure C, Nef S, Aubert ML, Hüppi PS. Perinatal exposure to bisphenol a alters early adipogenesis in the rat. *Environ Health Perspect.* 2009;117(10):1549-55.

⁸⁵ Sargis RM, Johnson DN, Choudhury RA, Brady MJ. Environmental endocrine disruptors promote adipogenesis in the 3T3-L1 cell line through glucocorticoid receptor activation. *Obesity (Silver Spring).* 2010;18(7):1283-8.

⁸⁶ Freire C, Koifman RJ, Sarcinelli PN, Simões Rosa AC, Clapauch R, Koifman S. Long-term exposure to organochlorine pesticides and thyroid status in adults in a heavily contaminated area in Brazil. *Environ Res.* 2013 Nov;127:7-15.

⁸⁷ Butt CM, Stapleton HM. Inhibition of thyroid hormone sulfotransferase activity by brominated flame retardants and halogenated phenolics. *Chem Res Toxicol.* 2013;26(11):1692-702.

⁸⁸ Maranghi F, De Angelis S, Tassinari R, Chiarotti F, Lorenzetti S, Moracci G, Marcoccia D, Gilardi E, Di Virgilio A, Eusepi A, Mantovani A, Olivieri A. Reproductive

toxicity and thyroid effects in Sprague Dawley rats exposed to low doses of ethylenethiourea. *Food Chem Toxicol.* 2013;59:261-71.

⁸⁹ Yu L, Chen M, Liu Y, Gui W, Zhu G. Thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae following exposure to hexaconazole and tebuconazole. *Aquat Toxicol.* 2013;138-139:35-42.

⁹⁰ Tang JM, Li W, Xie YC, Guo HW, Cheng P, Chen HH, Zheng XQ, Jiang L, Cui D, Liu Y, Ding GX, Duan Y. Morphological and functional deterioration of the rat thyroid following chronic exposure to low-dose PCB118. *Exp Toxicol Pathol.* 2013;65(7-8):989-94.

⁹¹ Long M, Ghisari M, Bonefeld-Jørgensen EC. Effects of perfluoroalkyl acids on the function of the thyroid hormone and the aryl hydrocarbon receptor. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2013;20(11):8045-56.

⁹² Gentilcore D, Porreca I, Rizzo F, Ganbaatar E, Carchia E, Mallardo M, De Felice M, Ambrosino C. Bisphenol A interferes with thyroid specific gene expression. *Toxicology.* 2013;304:21-31.

⁹³ Eskenazi B, Chevrier J, Rauch SA, Kogut K, Harley KG, Johnson C, Trujillo C, Sjödin A, Bradman A. In utero and childhood polybrominated diphenyl ether (PBDE) exposures and neurodevelopment in the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect.* 2013;121(2):257-62.

⁹⁴ Li X, Ye L, Wang X, Wang X, Liu H, Zhu Y, Yu H. Combined 3D-QSAR, molecular docking and molecular dynamics study on thyroid hormone activity of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers to thyroid receptors β . *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;265(3):300-7.

⁹⁵ Liu C, Ha M, Cui Y, Wang C, Yan M, Fu W, Quan C, Zhou J, Yang K. JNK pathway decreases thyroid hormones via TRH receptor: a novel mechanism for disturbance of thyroid hormone homeostasis by PCB153. *Toxicology.* 2012;302(1):68-76.

- ⁹⁶ Parham F, Wise A, Axelrad DA, Guyton KZ, Portier C, Zeise L, Thomas Zoeller R, Woodruff TJ. Adverse effects in risk assessment: modeling polychlorinated biphenyls and thyroid hormone disruption outcomes in animals and humans. *Environ Res.* 2012;116:74-84.
- ⁹⁷ Liu C, Wang C, Yan M, Quan C, Zhou J, Yang K. PCB153 disrupts thyroid hormone homeostasis by affecting its biosynthesis, biotransformation, feedback regulation, and metabolism. *Horm Metab Res.* 2012;44(9):662-9
- ⁹⁸ Roques BB, Lacroix MZ, Puel S, Gayraud V, Picard-Hagen N, Jouanin I, Perdu E, Martin PG, Viguié C. CYP450-dependent biotransformation of the insecticide fipronil into fipronil sulfone can mediate fipronil-induced thyroid disruption in rats. *Toxicol Sci.* 2012;127(1):29-41.
- ⁹⁹ Miller VM, Sanchez-Morrissey S, Brosch KO, Seegal RF. Developmental coexposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers has additive effects on circulating thyroxine levels in rats. *Toxicol Sci.* 2012;127(1):76-83.
- ¹⁰⁰ Chen Q, Yu L, Yang L, Zhou B. Bioconcentration and metabolism of decabromodiphenyl ether (BDE-209) result in thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae. *Aquat Toxicol.* 2012;110-111:141-8.
- ¹⁰¹ Lévy-Bimbot M, Major G, Courilleau D, Blondeau JP, Lévi Y. Tetrabromobisphenol-A disrupts thyroid hormone receptor alpha function in vitro: use of fluorescence polarization to assay corepressor and coactivator peptide binding. *Chemosphere.* 2012;87(7):782-8.
- ¹⁰² Yu L, Lam JC, Guo Y, Wu RS, Lam PK, Zhou B. Parental transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and thyroid endocrine disruption in zebrafish. *Environ Sci Technol.* 2011 Dec 15;45(24):10652-9.
- ¹⁰³ Freire C, Lopez-Espinosa MJ, Fernández M, Molina-Molina JM, Prada R, Olea N. Prenatal exposure to organochlorine pesticides and TSH status in newborns from Southern Spain. *Sci Total Environ.* 2011 Aug 15;409(18):3281-7.

- ¹⁰⁴ Ozpinar A, Golub MS, Poppenga RH, Blount BC, Gillespie JR. Thyroid status of female rhesus monkeys and preliminary information on impact of perchlorate administration. *Lab Anim.* 2011;45(3):209-14.
- ¹⁰⁵ Butt CM, Wang D, Stapleton HM. Halogenated phenolic contaminants inhibit the in vitro activity of the thyroid-regulating deiodinases in human liver. *Toxicol Sci.* 2011;124(2):339-47.
- ¹⁰⁶ Noyes PD, Hinton DE, Stapleton HM. Accumulation and debromination of decabromodiphenyl ether (BDE-209) in juvenile fathead minnows (*Pimephales promelas*) induces thyroid disruption and liver alterations. *Toxicol Sci.* 2011 Aug;122(2):265-74.
- ¹⁰⁷ Villanger GD, Lydersen C, Kovacs KM, Lie E, Skaare JU, Jenssen BM. Disruptive effects of persistent organohalogen contaminants on thyroid function in white whales (*Delphinapterus leucas*) from Svalbard. *Sci Total Environ.* 2011;409(13):2511-24.
- ¹⁰⁸ Li W, Zha J, Yang L, Li Z, Wang Z. Regulation of iodothyronine deiodinases and sodium iodide symporter mRNA expression by perchlorate in larvae and adult Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Mar Pollut Bull.* 2011;63(5-12):350-5.
- ¹⁰⁹ Villanger GD, Jenssen BM, Fjeldberg RR, Letcher RJ, Muir DC, Kirkegaard M, Sonne C, Dietz R. Exposure to mixtures of organohalogen contaminants and associative interactions with thyroid hormones in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*). *Environ Int.* 2011;37(4):694-708.
- ¹¹⁰ Axelstad M, Boberg J, Nellemann C, Kiersgaard M, Jacobsen PR, Christiansen S, Hougaard KS, Hass U. Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicol Sci.* 2011;120(2):439-46.

- ¹¹¹ Jin Y, Chen R, Wang L, Liu J, Yang Y, Zhou C, Liu W, Fu Z. Effects of metolachlor on transcription of thyroid system-related genes in juvenile and adult Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Gen Comp Endocrinol*. 2011;170(3):487-93.
- ¹¹² Liu Y, Wang J, Fang X, Zhang H, Dai J. The thyroid-disrupting effects of long-term perfluorononanoate exposure on zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology*. 2011;20(1):47-55.
- ¹¹³ Brophy JT, Keith MM, Watterson A, Park R, Gilbertson M, Maticka-Tyndale E, Beck M, Abu-Zahra H, Schneider K, Reinhartz A, Dematteo R, Luginaah I. Breast cancer risk in relation to occupations with exposure to carcinogens and endocrine disruptors: a Canadian case-control study. *Environ Health*. 2012;11:87.
- ¹¹⁴ Teng Y, Manavalan TT, Hu C, Medjakovic S, Jungbauer A, Klinge CM. Endocrine disruptors fludioxonil and fenhexamid stimulate miR-21 expression in breast cancer cells. *Toxicol Sci*. 2013;131(1):71-83.
- ¹¹⁵ Tilghman SL, Bratton MR, Segar HC, Martin EC, Rhodes LV, Li M, McLachlan JA, Wiese TE, Nephew KP, Burow ME. Endocrine disruptor regulation of microRNA expression in breast carcinoma cells. *PLoS One*. 2012;7(3):e32754.
- ¹¹⁶ Yu X, Filardo EJ, Shaikh ZA. The membrane estrogen receptor GPR30 mediates cadmium-induced proliferation of breast cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010;245(1):83-90.
- ¹¹⁷ Moral R, Santucci-Pereira J, Wang R, Russo IH, Lamartiniere CA, Russo J. In utero exposure to butyl benzyl phthalate induces modifications in the morphology and the gene expression profile of the mammary gland: an experimental study in rats. *Environ Health*. 2011 Jan 17;10(1):5.
- ¹¹⁸ Dorosh A, Děd L, Elzeinová F, Pěkníková J. Assessing oestrogenic effects of brominated flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A on MCF-7 cells. *Folia Biol (Praha)*. 2011;57(1):35-9.

