

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente

**Novos poluentes. Principais impactes de compostos
desreguladores endócrinos na saúde pública**

Patrícia Alexandra Freidíaz Duarte

Lisboa
(2008)

UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
Faculdade de Ciências e Tecnologia
Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente

**Novos poluentes. Principais impactes de compostos
desreguladores endócrinos na saúde pública**

Por:

Patrícia Alexandra Freidiaz Duarte

Dissertação apresentada na Faculdade de
Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de
Lisboa para a obtenção do grau de Mestre em
Engenharia do Ambiente

Orientador: Prof. Doutora Isabel Peres

Lisboa
(2008)

Agradecimentos

Gostaria de apresentar os meus agradecimentos a todas as pessoas que de certo modo ajudaram na realização deste trabalho.

Em particular queria agradecer:

- À Professora Isabel Peres, pela sua disponibilidade e preciosa ajuda na realização e orientação deste trabalho;
- A todas as instituições e organismos aos quais me dirigi;
- Aos meus amigos, ausentes e presentes, e aos que deviam estar mais presentes, pelo apoio e incentivo;
- À minha família, pelo carinho, disponibilidade e ânimo.

Obrigado.

Sumário

O desenvolvimento verificado nos processos de produção agrícola e industrial originou o aparecimento e acumulação de vários poluentes, como os compostos desreguladores endócrinos, os quais podem ser encontrados em diversos produtos como: plásticos, fitofarmacêuticos e compostos orgânicos, podendo os seus efeitos serem também provocados por metais pesados. Podem ainda, ter origem natural, como os fitoestrogéneos. Assim, a exposição a estes compostos pode materializar-se por diversas vias, das quais se destaca a alimentação.

Ao interagir com o sistema endócrino, aqueles compostos podem originar efeitos noutros sistemas, nomeadamente no reprodutivo, imunológico e neurológico, para além de poderem ter efeitos cancerígenos, bem como contribuir para a obesidade. O aumento da incidência de cancro, como da mama e dos testículos, tem levado a uma preocupação crescente sobre a exposição *in utero* àqueles compostos e durante fases chave do desenvolvimento.

Analisando três estudos, sobre os mencionados tipos de cancro, observou-se uma maior incidência nos países do Norte da Europa, assim como em grupos etários específicos. Comparando os dados de Portugal com a Europa, para 1997, observou-se uma menor incidência no nosso País.

Por outro lado, a Comissão Europeia adoptou medidas que se baseiam no controlo de risco referente à exposição a estes compostos, através de três fases: identificação, avaliação e gestão do risco. Legislação Comunitária, como a Directiva-Quadro da Água ou respeitante ao controlo de compostos químicos, contribuem também para reduzir a exposição a compostos desreguladores endócrinos.

Abstract

The development occurred in the processes of agricultural and industrial production led the emergence and accumulation of various pollutants, such as endocrine disrupting compounds, which can be found in various products like: plastics, plant protection and organic compounds, their effects can also be caused by heavy metals. They can also, have a natural origin, such as fitoestrogens. Thus, exposure to these compounds can materialize up by various ways, like feeding.

By interacting with the endocrine system they can cause effects in other systems, as in the reproductive, immune, and neurological, besides they may have carcinogenic effects, as well as contributing to obesity. The increased incidence of cancers of the breast and testicles has led to greater concern about exposure *in utero* and during important stages of development.

Analyzing three studies on these cancers, it's been observed a higher incidence in the Nordic countries of Europe, as well as specific age groups. Comparing the data from Portugal and Europe, for 1997, there was a lower incidence in our country.

On the other hand, the European Commission adopts measures, based on the control of the risk of these compounds, divided in three phases: the identification, evaluation and the risk management. The Community legislation such as the Water Framework Directive or the legislation to chemical compounds, also contributes to reduce the exposure to endocrine disrupters compounds.

Simbologia

BHA – Butil Hidroxianisol

BPA – Bisphenol_A

Cd – Cádmiio

CERHR – Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction

CIS – Carcinoma-in-Situ

CMR – Carcinogenic, Mutagenic or toxic for Reproduction

CSTEE – Committee Scientific on Toxicity, Ecotoxicity and Environment

DBCP – Dibromo-Dicloro-Propano

DCP – 2,4-diclorofenol

DDT – Dicloro-Difenil-Tricloroetano

DDE – Dicloro-Difenil-Dicloroetano

DES – Dietilestilbestrol

DHT – De-hidroxi-testosterona

ECL – European Cancer League

EDA – Effect Direct Analysis

EDSTAC – Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee

EDTA – Endocrine Disruptor Testing and Advisory Task Force

EINECS – European Inventory for New and Existing Chemicals

FDA – Food and Drug Administration

FP5 – Fifth Framework Program

HCB - Hexaclorobenzeno

Hg – Mercúrio

IARC – International Agency for Research on Cancer

INSL3 – Insulin-like-factor 3

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change

IPCS - International Programme on Chemical Safety

MeHg – Metil-mercúrio

NCEH – National Center for Environmental Health

NIEHS – National Institute of Environmental Health Sciences

NRDC – Natural Resources Defense Council

OCDE – Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAHs – Hidrocarbonetos Aromáticos Polinucleares
Pb – Chumbo
PBDEs – Difenil-éteres Polibromados
PCBs – Bifenilos Policlorados
PCDD – Dibenzo-p-dioxinas Policloradas
PCDF – Dibenzofuranos Policlorados
POPs – Poluentes orgânicos persistentes
PVC – Policloreto de vinilo
RA – Receptor do Adrogéneo
RE – Receptor do Estrogéneo
ROR – Centro – Registo Oncológico da Região Centro
ROR – Norte – Registo Oncológico da Região Norte
ROR – Sul – Registo Oncológico da Região Sul
RP – Receptor da Progesterona
RT – Receptor da Tiróide
SCF – Scientific Committee on Food
SIDS – Screening Information Data Set
Sn - Estanho
TBT – Tributílic estanho
TCDD – 2, 3, 7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina
TIE – Toxicity-Identification Evaluation
UNECE – United Nations Economic Commission for Europe
US-EPA – United States, Environmental Protection Agency
WTO – World Trade Organization

Índices

Índice de Matérias

Agradecimentos	ii
Sumário	iii
Abstract	iv
Simbologia	v
1. Introdução	1
1.1. Tipos de Poluentes	6
- Químicos Sintéticos	7
- Compostos fitofarmacêuticos	13
- Compostos Orgânicos	15
- Metais Pesados	17
- Compostos naturais	20
1.1.2 Dose-Resposta e Exposição em Crianças	22
1.2. Efeitos no Homem	24
1.2.1 Reprodução	25
•Fertilidade e Rácio Sexual	27
•Qualidade do esperma	28
•Hipóspadia e Criptorquidia	30
•Endometriose	31
•Outros	31
1.2.2 Sistema Neurológico	33
1.2.3 Sistema Imunitário	35
1.2.4 Cancro	37
•Cancro da Mama	38
•Cancro Endometrial	40
•Cancro dos Testículos	40
•Cancro da Próstata	44
•Cancro da Tiróide	46
1.2.5 Obesidade	46
1.3. Desreguladores Endócrinos	48
1.3.1 Sistema Endócrino	51

1.4. Avaliação de Impactes	54
2.Objectivos	57
3. Plano de Trabalho	59
4. Casos de Estudo	61
5. Discussão	71
6. Conclusões	91
7. Previsão de trabalho futuro	93
Anexo I	95
Referências Bibliográficas	101

Índice de Figuras

Figura 1.1.1 – Concentração TEQ (Equivalentes Tóxicos) de Dioxinas no Leite Materno entre 1988 e 2002	9
Figura 1.1.2 – Concentração de Chumbo no sangue de crianças ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	18
Figura 1.2.1 – Representação das possíveis causas e vias que levam à síndrome da disfunção testicular	26
Figura 1.2.2 – Variação da incidência do cancro da mama, testículos e próstata segundo a idade	37
Figura 1.2.3 – Incidência do Cancro dos Testículos	41
Figura 1.2.4 – Incidência do Cancro dos testículos por ano de diagnóstico e país	43
Figura 1.2.5 – Incidência da criptorquidia e do cancro dos testículos na Finlândia e na Dinamarca	44
Figura 1.3.1 – Processo de desregulação endócrina	49
Figura 1.3.2 – Estrutura Química do 17β -Estradiol	52
Figura 4.1 – Estimativa da incidência do Cancro da Mama em alguns países europeus	62
Figura 4.2 – Incidência do cancro dos testículos no continente Europeu	63
Figura 4.3 – Tendência do cancro dos testículos em grupos etários, na França e Reino Unido	66
Figura 4.4 – Tendência do cancro dos testículos em grupos etários, nos países nórdicos	67
Figura 4.5 – Evolução do Cancro em Lisboa e Vale do Tejo	68
Figura 4.6 – Comparação da Incidência de Cancro em Portugal e na União Europeia (15) em 1997	69

Figura 5.1 – Diagrama da avaliação do risco ecológico segundo a US-EPA	79
Figura 5.2 – Estratégia para a avaliação do risco dos desreguladores endócrinos	79
Figura 5.3 – Relação entre a Directiva Quadro da Água e as Directivas da Água	87

Índice de Quadros

Quadro 1.1.1 – Exemplos de desreguladores endócrinos sintéticos	7
Quadro 1.1.2 – Ingestão diária de PBDEs na região da Catalunha, Espanha	12
Quadro 1.3.1 – Poluentes, modo de actuar e efeitos	50
Quadro 1.4.1 – Excreção diária (μg) per capita de estrogéneos	54
Quadro 1.4.2 – Remoção de estrogéneos, por filtros biológicos e lamas activadas, numa ETAR	55
Quadro 5.1 – Metas e acções da Convenção de Estocolmo	71
Quadro 5.2 – Projectos financiados pela União Europeia	82

1. Introdução

Os últimos 50 anos são caracterizados por uma grande evolução industrial e como tal um grande desenvolvimento nos processos de produção agrícola e industrial. Estes fenómenos provocaram o aparecimento de grandes quantidades de químicos no Ambiente, os quais, podendo acumular-se, persistem até aos nossos dias. Muitos desses químicos podem ser considerados como desreguladores endócrinos, podendo ter efeitos na saúde humana, uma vez que interferem com o bom funcionamento do sistema endócrino.

Com a revolução industrial o mundo desenvolvido experimentou não só uma melhoria de vida como uma degradação do Ambiente. A melhoria de vida fez com que se criassem novos hábitos de consumo, os quais têm vindo a gerar a escassez de muitos recursos. O impacto ambiental do consumismo tornou-se notório a partir dos últimos trinta anos do século vinte (Cahill, 2003). O aumento do consumo de energia, de água e de alimentos não permite que a taxa de renovação destes recursos seja superior ao seu consumo, podendo tornar-se recursos não renováveis (Abreu, 2007). Entre os novos hábitos de consumo tem-se o aumento do uso de plásticos, que chegou a cerca de 250 milhões de toneladas em 2006, em todo o mundo. Está previsto um aumento de 50 milhões em 2010, sendo 25% correspondente à Europa Ocidental, tendo Portugal um consumo de aproximadamente 900 mil toneladas (Ambiente online, 2007). A produção destes plásticos, assim como de produtos agrícolas, eléctricos, ou até de retardantes de combustão, necessários para fazer frente aos novos hábitos de consumo, utiliza químicos que têm propriedades desreguladoras endócrinas. Estes, após a sua função, permanecem no ambiente, contaminando-o e tendo importantes impactes em vários ecossistemas.

Desde 1900 que estes compostos são conhecidos, mas só recentemente levantaram problemas a nível do ambiente e da saúde pública. A libertação destes químicos desde os anos quarenta, fez com que as primeiras gerações em contacto com os mesmos, fossem as dos anos cinquenta e sessenta. No entanto, só agora se conseguiu começar a elaborar uma imagem das consequências da exposição a estes químicos a longo prazo, ainda que se tenha de esperar quase até 2020 para se observar realmente como estes químicos poderão ter afectado a saúde humana (Birkett e Lester, 2003).

Estes compostos são considerados desreguladores endócrinos já que têm a capacidade de imitar e contrariar o efeito das hormonas endógenas e desregular a síntese e o metabolismo das mesmas, assim como alterar a síntese dos receptores hormonais (Mendes, 2002). Para além disso, têm a capacidade de se bioacumular nos tecidos gordos, leite e gema de ovo, onde permanecem durante bastante tempo, podendo ainda ser transferidos pela cadeia alimentar, sendo que, os predadores dos níveis mais elevados, como o homem, podem estar expostos a estes compostos (Whaley *et al.*, 2001).

Os químicos considerados como desreguladores endócrinos, podem ser analisados segundo a sua origem. Assim, têm-se os químicos sintéticos, como os PCBs (bifenilos policlorados), as dioxinas, o Bisfenol_A (BPA), os ftalatos; os fitofarmacêuticos, como os Pesticidas (DDT, Vinclozina e Antrazina); os compostos orgânicos, como os nitratos e o TBT (tributilestanho); os metais pesados (Chumbo, Cádmio e Mercúrio) e, por último, os naturais, como o fitoestrogénio (isoflavonas). A presença destes químicos no dia a dia é muito comum, já que podem ser encontrados em equipamentos eléctricos, no revestimento de latas de conserva, em cosméticos, em alimentos e animais, e ainda na água, no ar e no solo. A poluição do ar, das massas de água e do solo, constitui uma fonte inevitável destes compostos (Reys, 2001).

Muitos destes químicos são Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs), tendo características que fazem com que permaneçam no ambiente por longos espaços de tempo (Reys, 2001; Abelhsohn *et al.*, 2002). Entre essas características está a presença do átomo de Carbono e a propriedade de serem lipofílicos, o que os torna acumuláveis na gordura de organismos vivos, permanecendo na cadeia alimentar, e sendo resistentes à degradação biológica e química (Abelhsohn *et al.*, 2002). Uma das características dos POPs é que o seu transporte depende da temperatura, variando nas diferentes zonas do planeta, podendo evaporar-se, ser transportados pelo vento ou depositar-se. À medida que se afastam do Equador, vão encontrando climas mais temperados e com menos evaporação, o que leva a uma maior deposição e um movimento dos compostos para as zonas montanhosas e para os pólos. Como o tecido dos seres vivos que habitam os pólos e as zonas mais frias, é adiposo, mais grosso e consistente, os peixes, as aves e os mamíferos sofrem uma contaminação que depende destes tecidos. Assim, populações que vivem longe dos sítios onde se produziram ou foram emitidos os pesticidas ou outros produtos químicos industriais, podem possuir os níveis mais elevados nos seus organismos (Convenção de Estocolmo, 2006). Muitas vezes, o metabolismo de alguns

químicos pode originar tanto a sua inactivação a nível hormonal, como metabolitos, os quais muitas vezes são mais perigosos do que o composto original (Borgert *et al.*, 2003).

A presença destes xenobióticos nos ecossistemas aquáticos, da Europa e da América do Norte, deve-se à deposição atmosférica (Reys, 2001) e principalmente, às descargas de águas residuais e escorrências agrícolas. Já nos países pouco desenvolvidos, a fonte destes químicos são as descargas descontroladas de águas residuais, tanto domésticas como industriais. Também a água já tratada e destinada ao consumo humano, pode ser contaminada, através das condutas de transporte. Assim, as tubagens de PVC podem transferir plastificantes, como o ftalato ou outros compostos orgânicos (como o TBT – tributilestanho; Falconer *et al.*, 2006). Este factor é muito importante, já que a água de consumo constitui uma das principais vias de exposição para o ser humano (Birkett e Lester, 2003).

A quantidade de desreguladores endócrinos nas águas residuais depende da sua proveniência, ou seja, se é doméstica, hospitalar, industrial ou de criação intensiva de animais (como suiniculturas) (Falconer *et al.*, 2006). A monitorização destes químicos, assim como o uso de novas tecnologias para o tratamento das águas residuais, é importante para a diminuição da contaminação das massas de água, assim como da população, já que a água residual tratada poderá vir a ser reutilizada (Shaw e McCully, 2002; Falconer *et al.*, 2006). Outro factor de preocupação deve-se aos efeitos observados em populações de peixes que habitam perto de descargas residuais. Estes efeitos prendem-se com redução de fertilidade e feminização (Diniz, 2005; Falconer *et al.*, 2006). Uma vez neste meio, os compostos contaminam o biota através do sistema respiratório (guelras), digestivo (presença na cadeia alimentar) e até pela pele (Reys, 2001). A concentração dos desreguladores endócrinos tende a diminuir ao longo da coluna de água, sendo no entanto bastante elevada nos sedimentos. A deposição destes compostos nos sedimentos pode ter consequências como: a persistência dos compostos no meio aquático; poderem ser transportados para outras zonas menos afectadas e a acumulação na cadeia alimentar, pois afectam os organismos bênticos e como tal os peixes (Birkett e Lester, 2003).

Como foi referido, existem evidências de efeitos desreguladores endócrinos em peixes que habitam zonas de descargas de águas residuais e também em moluscos. Nestes verificam-se elevados níveis de vitelogenina e uma elevada prevalência de *imposex* (Birkett e Lester, 2003), respectivamente. A vitelogenina é uma fosfoglicoproteína precursora da formação da

gema dos ovos. É verificada durante o estado de maturação sexual em fêmeas após uma activação do sistema por estrogéneos. Assim, a observação de níveis elevados desta proteína em machos é considerada um biomarcador de poluição estrogénica, já que estes não possuem, normalmente, estrogéneos suficientes para desencadear a sua produção (Mendes e Oliveira, 2004). O *imposex*, por sua vez, é considerado como uma indução de um polihemafroditismo, onde as fêmeas apresentam órgãos reprodutores masculinos (Hagger *et al.*, 2006). Este efeito é muito verificado em moluscos que habitam zonas contaminadas com TBT ou outros compostos estrogénicos (Lagadic *et al.*, 2007). As consequências do *imposex* prendem-se com restrições a nível reprodutivo das fêmeas e leva a declínios das populações. O desenvolvimento de pénis e vasos deferentes faz com que se acumulem os ovos abortivos, já que a vagina se encontra bloqueada. Estudos demonstraram que não são necessárias grandes quantidades de TBT para se verificar o aparecimento e até o desenvolvimento de órgãos masculinos em fêmeas. Assim, com menos de 1 ng Sn/L tem início o processo e com concentrações superiores a 2 ng Sn/L dá-se o bloqueio da saída dos ovos (Hagger *et al.*, 2007).

Em relação ao meio terrestre, a exposição a estes compostos dá-se principalmente pela poluição do solo, que pode ser originada por poluição difusa ou por deposição atmosférica (de Hann, 1993). A alimentação é a via de maior exposição para o ser humano (Reys, 2001; Mendes, 2002) e a que está intimamente relacionada com a poluição do solo.

A capacidade de se poderem acumular nos tecidos gordos dos animais, faz com que estes xenobióticos permaneçam na cadeia alimentar, alcançando em grandes quantidades os patamares mais elevados, ou seja o Homem. A utilização de hormonas sintéticas para acelerar o processo de aumento de peso de gado, pode também ser considerada uma fonte destes poluentes (Sharpe, 2003), uma vez que não só podem permanecer na carne, como ao serem libertadas nos dejectos dos animais, alcançam os solos, lençóis freáticos e até albufeiras, contaminando a água. Estima-se que os animais que mais contribuem para o aumento de hormonas no solo a partir de dejectos sejam os porcos e o gado bovino, com valores de 2300 µg/dia e 540 µg/dia, respectivamente. Se a isto adicionarmos que muitas vezes estes dejectos são utilizados como adubo na agricultura (Lange *et al.*, 2002), surge a contaminação do solo e de culturas com estas hormonas. Mas os alimentos que chegam ao ser humano não são apenas contaminados desta forma, pois as próprias embalagens utilizadas podem possuir químicos (Reys, 2001; Shaw e McCully, 2002).

Dos casos mais documentados, na vida selvagem, está o declínio da população de jacarés do Lago Apopka na Florida, onde a maioria dos machos possuía pequenos pénis que impediam uma reprodução satisfatória. Este problema de desenvolvimento estava relacionado com um grande derrame de pesticidas organoclorados ocorrido em 1980, o que originou um declínio da população em 90%. Os jovens jacarés deste lago mostravam anormalidades no seu desenvolvimento, como, morfologia anómala das gônadas, alteração da formação de esteróides e variação das concentrações de esteroides sexuais em machos e fêmeas (IPCS, 2002; Whaley *et al.*, 2001). Apesar dos testes realizados à água serem negativos, os jacarés e os seus ovos mostraram níveis detectáveis de pesticidas desreguladores endócrinos (NRDC, 2007).

A poluição do ar também contribui para a presença destes químicos no Ambiente. Esta poluição é caracterizada pela presença de poluentes de origem antropogénica ou natural, na atmosfera. Estes podem interferir com a saúde, segurança e bem-estar dos seres vivos (Cançado *et al.*, 2006). Esta poluição é considerada transfronteiriça (Confagri, 2007) uma vez que o vento pode transportar os poluentes de uma região para outra (ABC do ambiente, 2006), dando-se depois a sua deposição no solo e nas massas de água. A emissão de poluentes por indústrias e por automóveis são as principais fontes antropogénicas. No entanto, a volatilização de alguns metais pesados de combustíveis ou de compostos orgânicos, como os hidrocarbonetos, dos carburantes, também contribuem para esta poluição (Fulgêncio, 2007).

A exposição humana a esta poluição ocorre principalmente por inalação, mas também pode ocorrer indirectamente, devido à deposição dos mesmos no solo e na água. A inalação é a via de entrada mais directa dos poluentes no corpo humano e para a corrente sanguínea, onde permanecem e podem exercer os seus efeitos nocivos. Diversos estudos demonstraram que os combustíveis fósseis possuem actividade estrogénica, já que os compostos emitidos possuem grupos fenólicos, sendo esta uma característica dos poluentes estrogénicos (Wang *et al.*, 2003). Foi também descoberto que aquele tipo de combustível não exerce apenas actividade estrogénica, desde que os seus compostos podem também influenciar negativamente a actividade da progesterona (Wang *et al.*, 2005).

Um dos efeitos mais observados nas aves é o enfraquecimento da casca do ovo. As aves possuem um metabolismo muito rápido e uma biotransformação de xenobióticos também elevada, pelo que são susceptíveis de sofrerem com a exposição a estes compostos. Este efeito é induzido pelo DDT e pelo seu metabolito o DDE. O enfraquecimento da casca do ovo leva a

que acabem por partir antes de tempo, levando à morte e tendo consequências a nível da população (IPCS, 2002).

Outras vias de exposição a estes químicos são a ocupação do ser humano, ou seja, trabalhadores de indústrias químicas e agricultores, que podem ser contaminados por inalação ou por contacto através da pele (Reys, 2001; IPCS, 2002). Os acidentes profissionais, ou industriais, são também uma via de exposição, ainda que em menor escala. Não ocorrem todos os dias, no entanto, podem ter maiores consequências, já que as quantidades de químicos libertadas podem ser muito superiores. Resumindo, existem três formas de exposição no caso dos seres humanos: ambiental, alimentar e ocupacional (Shaw e McCully, 2002; Clementi *et al.*, 2007).

Como se referiu, os efeitos observados na vida aquática e terrestre prendem-se com efeminizações e demasculinização de peixes, crustáceos, aves, répteis e mamíferos, e ainda diminuição da fertilidade e anomalias na função da tiróide (Solomon, 2000; Whaley *et al.*, 2001). Por seu lado, no ser humano, as evidências documentadas, prendem-se com o aumento de casos de cancro, da mama e endometrial nas mulheres, e dos testículos, da próstata e também da mama nos homens, assim como, diminuição da fertilidade (Whaley *et al.*, 2001).

Os primeiros casos de efeitos em humanos remontam aos anos 40, quando trabalhadores da aplicação de pesticidas, através de avionetas, tinham uma reduzida contagem de espermatozóides devido ao contacto com o DDT (Mendes, 2002). Outro acontecimento originado por químicos sintéticos foi o caso do “dietilestilbestrol”, mais conhecido como DES, um estrogéneo sintético prescrito a muitas mulheres nos anos 50 e 60 para prevenir abortos. Este fármaco não só não preveniu os abortos espontâneos, como teve inúmeros efeitos na saúde das mulheres e dos seus descendentes. Entre eles estão vários tipos de cancro, como por exemplo cancros vaginais raros nas filhas adolescentes, defeitos de nascença no útero e ovários e supressão de imunidade (Reys, 2001; IPCS, 2002; Janssen *et al.*, 2007). A exposição a este químico é hoje em dia utilizada como modelo de estudo da forma de actuação de outros compostos, suspeitos de serem estrogénicos (Janssen *et al.*, 2007).

1.1. Tipos de Poluentes

Em 2000, foi proposta, pela Comissão da Comunidade Europeia, uma lista com 553 substâncias sintéticas e 9 hormonas naturais e sintéticas para serem estudadas as suas

actividades de desregulação endócrina. Dessas 553, apenas 118 apresentaram evidências dessa actividade, não havendo dados para caracterizar as restantes. Foram ainda avaliadas 129 outras substâncias, as quais possuíam restrições de utilização pela União Europeia, mas por outros motivos. Assim, os poluentes com este tipo de actividade podem ser agrupados em dois grandes grupos: as substâncias sintéticas e as naturais (Bila e Dezotti, 2007).

1.1.1 Classificação de Poluentes Desreguladores Endócrinos

Tendo em conta a classificação anteriormente indicada, dentro do grupo das substâncias sintéticas podem encontrar-se quatro outros grupos, como os químicos sintéticos, os fitofarmacêuticos, os compostos orgânicos e os metais pesados. Entre as substâncias naturais têm-se os fitoestrogéneos. Esta organização mais detalhada permite organizar os poluentes com base na sua origem ou utilização.

De seguida, apresentam-se alguns exemplos de cada grupo, assim como a sua utilização, a via de exposição e alguns efeitos observados.

- Químicos Sintéticos

Dentro deste grupo encontram-se os derivados da indústria química, relacionando-se no Quadro 1.1.1, o químico com a sua utilização.

Quadro 1.1.1 – Exemplos de desreguladores endócrinos sintéticos

Químicos	Aplicações
Organohalogenados	PCBs utilizados no fabrico de equipamento eléctrico; Dioxinas produzidas na incineração de hidrocarbonetos clorados.
Ftalatos	Utilizados como plastificantes e na produção de cloreto de polivinilo (PVC).
Alquilfenóis	Utilizados para produzir detergentes, tanto domésticos como industriais, e produtos industriais.
Bisfenol A	Utilizado em vernizes e em tratamentos dentários, assim como para revestimento de latas de conserva.
Difenil-éteres Polibromados (PBDEs)	Retardantes de combustão e como tal utilizados em plásticos e têxteis para retardar a sua inflamação.
Parabens	Utilizados como preservantes em cosméticos e algumas pastas dentífricas.

Butil Hidroxianisol (BHA) Antioxidante de alimentos.

(Adaptado de COM 1999 e Reys 2001)

- **PCBs e Dioxinas**

Os compostos organoclorados, como os PCBs e as dioxinas são hidrocarbonetos halogenados e com capacidade para permanecer durante muito tempo no ambiente (Lundqvist *et al.*, 2006), sendo considerados POPs. Os PCBs foram utilizados desde os anos 20, com muito êxito por serem não inflamáveis e muito estáveis (Whaley *et al.*, 2001), vindo a ser banidos nos anos 70 (Gandolfi *et al.*, 2002; Lundqvist *et al.*, 2006). Os seus usos prendem-se com diferentes actividades, como aditivos de óleos hidráulicos e plastificantes (Lundqvist *et al.*, 2006), assim como no fabrico de equipamento eléctrico (Reys, 2001) e adesivos, têxteis e impressões (Gandolfi *et al.*, 2002). As dioxinas por seu lado, não são fabricadas intencionalmente, senão sendo subprodutos da combustão incompleta de compostos contendo substâncias orgânicas e cloro, na maioria dos casos, originadas em incineradoras de resíduos (Whaley *et al.*, 2001; Lundqvist *et al.*, 2006).

A maior via de exposição a estes químicos, para o ser humano é a alimentação, já que são dificilmente degradáveis e bioacumuláveis na gordura animal, persistindo no Ambiente e entrando assim na cadeia alimentar (Lundqvist *et al.*, 2006). Cientistas de todo o mundo, encontraram PCBs em praticamente todo o lado, como no solo, na água, no ar e nos tecidos dos seres vivos. Isto ocorre já que se estima que tenham sido libertados mundialmente 1,5 milhões de toneladas de PCBs, havendo 209 espécies do mesmo (Whaley *et al.*, 2001). A exposição a estes poluentes pode começar antes do nascimento, pois estes conseguem atravessar a placenta da progenitora e bioacumular-se no leite materno (Lundqvist *et al.*, 2006; Brody *et al.*, 2006).

Os efeitos observados na vida selvagem originados por estes químicos afectam principalmente a fertilidade e o desenvolvimento dos descendentes (Whaley *et al.*, 2001). Dois acidentes ocorridos na Ásia, um no Japão em 1968 (Yusho; Aoki, 2001) e outro na Tailândia em 1978-79 (Yu-Cheng; Hsu *et al.*, 2007), estão relacionados com a exposição ao PCB. Ambos se referiam a envenenamento pelo consumo de óleo de arroz contaminado com este composto, apresentando no entanto consequências diferentes, como se poderá observar ao longo deste trabalho. Ainda assim, em ambos os casos verificam-se um elevado número de crianças expostas a este químico, tanto *in utero* como após o nascimento, através da amamentação (Aoki, 2001).

Uma das dioxinas mais conhecidas e mais perigosa é o TCDD ou 2,3,7,8-tetraclorodibenzeno-p-dioxina, o qual consegue alterar o metabolismo das hormonas, como o estrogéneo, através da modificação de enzimas (Birnbaum e Fenton, 2003). Este químico induz uma série de reacções adversas, tanto biológicas como fisiológicas, incluindo imunotoxicidade, como a atrofia do timo e a supressão da produção de anticorpos (Inadera, 2006). A primeira exposição conhecida a este químico ocorreu numa explosão de um reactor de triclorofenol, em Nitro, no Oeste da Virgínia em 1949. Outro acidente ocorreu em Seveso, Itália em 1976 (NCEH, 2005). As dioxinas, em geral, podem ainda alterar o transporte das hormonas afectando a ligação proteica no sangue (Birnbaum e Fenton, 2003) e originar sintomas neurológicos (Whaley *et al.*, 2001). Também as dioxinas se podem bioacumular no leite materno e assim chegar às crianças. Como se observa na Figura 1.1.1, as concentrações no leite materno têm vindo a diminuir ao longo dos anos, principalmente devido às políticas aplicadas em muitos países, que determinaram a redução de emissões (WHO, 2004).

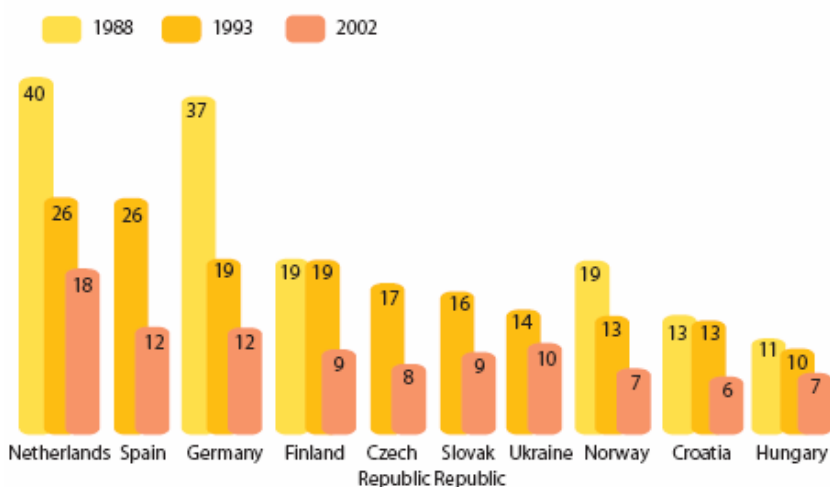


Figura 1.1.1 – Concentração TEQ (Equivalentes Tóxicos) de Dioxinas no Leite Materno entre 1988 e 2002 (picogramas por grama corporal - pg/g; WHO, 2004)

- **Ftalatos**

O uso primário dos ftalatos consiste em dar flexibilidade aos plásticos, ou seja são usados como plastificantes. No entanto, podem ainda ser encontrados em papel de parede, brinquedos, embalagens alimentares e em utensílios hospitalares (CERHR, 2006; NIEHS, 2007; Slowikowska-Hilczer, 2006), como bolsas de armazenamento de sangue e tubos intravenosos. Podem ainda ser utilizados em produtos de higiene, como sabão, champô, desodorizantes ou em, verniz para unhas (NCEH, 2005). Assim, a exposição a este químico pode ocorrer em casa, no trabalho ou através de procedimentos médicos. A exposição no

Ambiente pode dar-se pelo ar, água ou alimentos, sendo esta última a maior via de exposição para muitas pessoas (NCEH, 2005; CERHR, 2006).

Geralmente, são metabolizados e excretados, pelo que não se acumulam no organismo em grandes quantidades (NCEH, 2005). Estudos feitos em animais demonstraram que este composto tem actividade antiandrogénica e que a exposição durante a fase fetal produz o decréscimo dos níveis de testosterona, a atrofia testicular e irregularidades nas células de Sertoli em machos. Doses mais elevadas levam a anomalias nos ovários femininos (NCEH, 2005; Slowikowska-Hilczer, 2006). Os efeitos associados a este poluente repercutem-se portanto no sistema reprodutor masculino, ainda que não existam conclusões determinantes, pois apenas se baseiam em estudos laboratoriais realizados em ratos (CERHR, 2006).

- **Bisfenol_A**

O Bisfenol_A (BPA) ou 2,2-bis(4-hidroxifenil)propano é utilizado principalmente na produção de plásticos policarbonados e resinas (vom Saal e Hughes, 2005; Slowikowska-Hilczer, 2006; Takayanagi *et al.*, 2006; NIEHS, 2007), assim como na produção de recipientes alimentares e em tratamentos dentários (Reys, 2001; Tsai, 2006; NIEHS, 2007). As vias de exposição a este químico, para o ser humano, materializam-se através da alimentação, já que tem a capacidade de se transferir do plástico para os alimentos, principalmente a temperaturas elevadas (Schönfelder *et al.*, 2002) ou em contacto com compostos ácidos ou básicos (vom Saal e Hughes 2005). A inalação e contacto pela pele, ou ainda através da saliva, quando usado em tratamentos dentários (Slowikowska-Hilczer, 2006; Tsai, 2006), são também vias de exposição humana.

Este composto é considerado um químico com propriedades estrogénicas, já que se consegue ligar ao receptor do estrogéneo humano e agir como um antagonista em relação ao receptor androgénico (Markey *et al.*, 2003; Takayanagi *et al.*, 2006). O poder estrogénico deste químico pode dever-se à sua semelhança estrutural com o poderoso fármaco DES (Markey *et al.*, 2003). Demonstrou-se ainda que este composto pode alterar a produção de hormonas esteroides *in vitro* (Patisoul *et al.*, 2007).

Um estudo realizado em 2005 nos Estados Unidos revelou que 95 % das amostras de urina humana recolhidas possuíam níveis de BPA consideráveis, o que pode ser justificado por um aumento da exposição do ser humano a este químico (vom Saal e Hughes, 2005). Em 2003,

aproximadamente $8,2 \times 10^5$ kg de BPA foram libertados para o ambiente, nos Estados Unidos, provenientes de vários sectores da indústria, de estações de tratamento de águas residuais (ETAR's) e de aterros sanitários (Tsai, 2006). Segundo o Comité Científico para a Alimentação (SCF) da Comissão Europeia, o ser humano ingere diariamente entre 0,0048 e 0,0016 mg/kg do referido composto. Este comité científico estabeleceu como dose diária tolerável o valor de 0,01 mg/kg. No entanto, a Agência para a Protecção do Ambiente dos Estados Unidos da América (US-EPA) estabelecem um valor 400 vezes superior, ou seja de 0,05 mg/kg (Patisoul et al., 2007).

Foram observados efeitos em alguns animais, como moluscos, peixes e mamíferos expostos a baixos níveis de BPA. Os efeitos foram observados no cérebro, no comportamento, no sistema imunitário e reprodutivo, masculino e feminino (vom Saal e Hughes, 2005). Estudos realizados em peixes japoneses (medaka ou peixe-do-arroz japonês) expostos a 10 µg/L de BPA, a quantidade normalmente encontrada nas águas residuais tratadas, demonstraram que aquela concentração foi suficiente para induzir a sua feminização (Markey *et al.*, 2003).

- **PBDEs ou retardantes de combustão**

Os difenil-éteres polibromados ou PBDEs são uma classe de químicos utilizados para retardar a combustão. Podem ser encontrados em têxteis, plásticos, materiais de construção e equipamentos electrónicos (Alaee e Wenning, 2002; Domingo, 2004). Pelas suas propriedades, estes químicos já protegeram muitas vidas e evitaram muitos danos de propriedades. Como tal, são considerados o segundo aditivo mais utilizado na indústria de plásticos. Estes retardantes de combustão são classificados como clorados ou bromados, sendo estes últimos classificados como reactivos ou aditivos de outros materiais. O PBDE insere-se na classe de aditivos e considera-se que estes são mais facilmente libertados para o Ambiente (Alaee e Wenning, 2002). Estes químicos são muito estáveis e têm a capacidade de se bioacumular, entrando na cadeia alimentar, levando ao aumento de concentração nos diferentes níveis tróficos (Domingo, 2004).

Os primeiros vestígios deste químico no Ambiente foram observados em amostras de solo e de lamas de zonas de fabricação destes compostos (Alaee e Wenning, 2002) e ainda em trutas num rio no nordeste da Suécia (She *et al.*, 2002). Desde essa altura tem-se registado a presença deste composto em lamas de ETAR, em sedimentos, no biota e em humanos. Estes químicos podendo acumular-se nos tecidos gordos de humanos e animais, podem permanecer no organismo e ser transferidos às seguintes gerações ou até aos seus predadores. A gordura

de animais, como as focas, são um óptimo local de acumulação destes compostos e como tal os níveis dos mesmos nestes tecidos podem ser utilizados como marcadores de poluição do habitat destes animais. Um estudo realizado na Califórnia, na baía de São Francisco, revelou elevados níveis destes retardantes tanto na gordura animal, como nos tecidos gordos dos humanos, sendo de 1730 µg/g de gordura e 86µg/g gordura, respectivamente (She *et al.*, 2002).

Estudos realizados na Suécia registaram que a concentração de PBDEs no leite materno tem vindo a duplicar cada cinco anos, nos últimos 25 anos, expondo assim as crianças a este químico (Alaee e Wenning, 2002). Um estudo realizado na Catalunha, Espanha, indica que os alimentos que possuem maiores concentrações deste químico são o peixe e marisco, assim como as gorduras e óleos. Os que apresentam os menores níveis são as frutas, vegetais e tubérculos, como se pode verificar no Quadro 1.1.2:

Quadro 1.1.2 – Ingestão diária de PBDEs na região da Catalunha, Espanha

Grupo Alimentar	Ingestão de PBDE (µg/dia)
Vegetais	1,8
Tubérculos	0,6
Frutas	1,4
Cereais	7,4
Peixe e Marisco	30,7
Carne e derivados	20,2
Ovos	2,2
Leite	3,7
Óleos e gorduras	24,1
Ingestão total	92,1

(Adaptado de Domingo, 2004)

Como se pode verificar, a exposição a este químico através da alimentação é elevado, sendo considerada de 73% e em relação à inalação de 27% (Domingo, 2004).

Os efeitos observados nos animais devidos a estes compostos são a nível da função da tiróide e da produção de hormonas. Recentemente tem-se verificado que estes xenobióticos possuem

actividade estrogénica, podendo actuar como as dioxinas. Ou seja, podem-se comportar como agonistas ou antagonistas na presença do receptor do estrogéneo, levando à produção de pseudo-estrogéneos (Alaee e Wenning, 2002).

- Compostos fitofarmacêuticos

Este grupo de compostos compreende os pesticidas, muito utilizados na agricultura, e na saúde pública, já que controlam insectos, pragas, animais e vectores de doenças (Bretveld *et al.*, 2006). Os pesticidas podem ser classificados segundo a sua função, ou seja, podem ser insecticidas (DDT), herbicidas (Antrazina) e fungicidas (Vinclozina) (Reys, 2001). Alguns insecticidas foram fabricados para desregular o sistema endócrino de certas espécies de insectos, enquanto minimizavam o efeito nos vertebrados, que se pudessem alimentar deles. No entanto, foram detectados efeitos adversos em várias espécies de vertebrados expostos a insecticidas (Whaley *et al.*, 2001).

Os pesticidas com acção desreguladora endócrina podem ser encontrados nos alimentos (Clementi *et al.*, 2007), solo, água, vida selvagem e nos tecidos adiposos das mães, chegando às crianças durante a gravidez e a lactação (Fernandez *et al.*, 2007). Tendo em conta as práticas agrícolas, as plantas e as culturas em geral podem absorver estes compostos directamente através da folhagem ou indirectamente através do solo (Birkett e Lester, 2003).

Os compostos fitofarmacêuticos podem originar problemas de saúde nos seres humanos, designadamente nos sistemas imunológico e reprodutivo e cancro. A manifestação destes efeitos depende do tipo de pesticida, da dose de exposição e da respectiva duração. Os efeitos a nível do sistema reprodutor podem dar-se dos seguintes modos: pela danificação directa da estrutura das células; interferindo com os processos bioquímicos necessários para a função normal das células e também efeitos de biotransformação, resultando em metabolitos tóxicos (Bretveld *et al.*, 2006). Assim, alguns pesticidas foram banidos em vários países, como o DDT, mas outros continuam a ser utilizados (Reys, 2001).

• DDT

Um dos usos mais importantes do dicloro-difenil-tricloroetano ou DDT é a campanha para a destruição do vector da malária pela Organização Mundial de Saúde (OMS-WHO). Este foi muito utilizado a partir de 1955, durante e após a segunda Guerra Mundial, em várias partes do mundo com resultados positivos como na Europa, América, Ásia e na África subsariana onde esta doença é considerada epidemia. Mas alguns anos depois começou a haver

resistência do parasita ao DDT, pelo que se começaram a utilizar outros pesticidas. Ainda que o DDT tenha tido um papel importante no controlo da malária, existem hoje em dia substitutos com garantias de sucesso, aparentemente com menores níveis de desregulação endócrina (NCEH, 2005).

Devido à sua toxicidade em animais e persistência ambiental, a sua utilização foi banida em 1973, nos Estados Unidos da América. No entanto, a sua produção neste país, continua, assim como a exportação para outros países onde o seu uso é autorizado (Whaley *et al.*, 2001). No nordeste brasileiro, face à grande proliferação de insectos e roedores, o uso do DDT é normal na comunidade agrícola. Assim, a incidência de malformações genitais em rapazes recém-nascidos é muito elevada nesta região (94/100.000 ano) (Slowikowska-Hilczer, 2006).

Estima-se que a dose diária que o ser humano ingere de DDT, presente em alimentos, seja da ordem de 9,12 µg/dia sendo contudo insuficiente para produzir efeitos (Shaw e McCully, 2002). Entretanto, tendo em conta que já existe estrogéneo no corpo humano e que este químico tem poder estrogénico, poderão surgir efeitos por acumulação desta hormona.

O DDT e o dicloro-difenil-dicloroetano (DDE), o seu metabolito mais persistente, podem alterar o metabolismo das hormonas sexuais, reduzindo a testosterona disponível nos tecidos (Bhatia *et al.*, 2005) levando a fenómenos de feminização na vida selvagem (Whaley *et al.*, 2001), sendo este último um antagonista do receptor do androgénio (Solomon, 2000; Bhatia *et al.*, 2005). Estes compostos têm a capacidade de se bioacumularem nos tecidos, concentrando-se assim ao longo da cadeia alimentar (Whaley *et al.*, 2001).

- **Atrazina**

Estima-se que os herbicidas sejam utilizados em mais de 14% da área dos Estados Unidos da América, dos quais mais de 60% são considerados desreguladores endócrinos. É seguro dizer-se que hoje, em dia, todas as crianças do hemisfério Norte estão expostas a pesticidas, desde a concepção, até à gestação e lactação (Colborn, 2006).

Aproximadamente 60% da população americana encontra-se exposta a Atrazina diariamente. Esta é usada como herbicida no controlo do crescimento de ervas daninhas, em campos de milho, de cana-de-açúcar e pomares, entre outros usos (Birnbaum e Fenton, 2003). A atrazina bloqueia a acção da testosterona no crescimento dos tecidos dependentes do androgénio,

levando a feminização indirecta (Waring e Harris *et al.*, 2005). Pensa-se que a sua actuação não se deve à ligação com os receptores de estrogéneo e androgéneo, pois possui pouca afinidade para estes, senão que pode inibir a eliminação de algumas enzimas, levando ao aumento da transcrição do gene humano da aromatase e elevando assim a produção de estrogéneo (Fan *et al.*, 2007). Também reduz a libertação de hormonas pelo hipotálamo, interferindo com o metabolismo do estradiol (Solomon, 2000). Como efeitos associados tem-se o aumento da incidência do cancro da mama em roedores, sendo associado a este tipo de cancro também nas mulheres (Fan *et al.*, 2007).

- **Vinclozina**

A vinclozina é um fungicida utilizado para fungos da fruta (Whaley *et al.*, 2001). Este composto e os seus metabolitos são antiandrogénicos, pelo que se ligam ao receptor do androgénio e bloqueiam as respostas celulares da testosterona (Whaley *et al.*, 2001; Mendes, 2002). Quando isto acontece o desenvolvimento sexual masculino ressent-se, podendo verificar-se hermafroditismo (Whaley *et al.*, 2001).

- **Compostos Orgânicos**

Entre os compostos orgânicos com actividade desreguladora endócrina, tem-se o TBT, tributilestanho, e os nitratos.

- **TBT**

O TBT tem uma grande actividade hormonal e pode ser encontrado nos ecossistemas aquáticos. Utilizado nas tintas dos cascos dos navios para prevenir o crescimento de organismos aquáticos (Whaley *et al.*, 2001) e como preservante da madeira, levou, à contaminação dos ambientes marinhos e de água doce. A exposição humana a este composto orgânico dá-se através do consumo de carne e de peixe contaminado, já que é um poluente orgânico persistente, permanecendo na cadeia alimentar (Inadera, 2006).

O TBT tem demonstrado exercer efeitos androgénicos e de poder inibir a actividade da aromatase, a qual converte o androgénio em estrogéneo (Inadera, 2006). Estudos realizados em laboratório com ratos, com exposição neonatal ao TBT, indicam que este desregulador endócrino pode afectar o tamanho dos testículos, sendo a síntese da testosterona afectada (Kuwada *et al.*, 2006). No sistema imunológico, a exposição ao TBT, origina atrofia do timo (Inadera, 2006). Este composto tem a capacidade de induzir, irreversivelmente, características

masculinas em búzios fêmeas (*imposex*). O grau desta indução depende da dose e do tempo de exposição ao químico (Whaley *et al.*, 2001).

- **Nitratos**

Nas últimas décadas o ciclo do azoto tem sido alterado pelo ser humano, havendo assim uma acumulação de nitratos nas massas de água. As principais fontes antropogénicas de azoto são a utilização de fertilizantes na agricultura, os resíduos animais e humanos, as emissões de óxidos de azoto pelos automóveis e a fixação deste composto por algumas leguminosas (Ward *et al.*, 2005). A utilização de fertilizantes tem vindo a originar a entrada excessiva de nitratos nos habitats aquáticos, sob a forma de poluição difusa, o que também acaba por contaminar os lençóis freáticos (Guillette e Edwards, 2005). As principais vias de exposição a este composto são os alimentos e o consumo de água. Entre os alimentos, os vegetais apresentam os maiores níveis de nitratos, 90% em comparação com a carne, 10% (Omaye, 2004). Muitas populações são ainda abastecidas por poços privados, os quais podem na maioria das vezes estar contaminados com nitratos. Em vários países da Europa de Leste verificam-se níveis elevados de nitratos em poços, como por exemplo, na Roménia, que tem 20% dos 2000 poços com níveis de nitratos superior a 23 mg/L. Outros países, como a China, a Turquia, o Senegal e o México, possuem, na sua maioria níveis de nitratos superiores a 68 mg/L nos poços (Ward *et al.*, 2005). Segundo o Decreto-Lei 236/98, que estabelece parâmetros de qualidade de água de abastecimento, o valor máximo recomendável de nitratos na água é de 25 mg/L e o máximo admissível de 50 mg/L, pelo que se consideram elevados os níveis deste composto naqueles poços, podendo ter efeitos na saúde. Os nitratos não são metabolizados pelas enzimas humanas, pelo que são reduzidos por bactérias, a nitrito e outros compostos bioactivos, que afectam alguns processos fisiológicos e consequentemente a saúde humana (Ward *et al.*, 2005).

Foi observado que os nitratos têm capacidade para desregular o sistema endócrino, já que conseguem alterar a síntese de esteróides (hormonas sexuais) das gónadas. Este processo pode ocorrer dos seguintes modos: conversão do nitrato a nitrito e óxido nítrico nas mitocôndrias, onde se inicia a síntese de esteróides; ou alterando as concentrações do ião cloreto nas células, substituindo-o por clorato na membrana de transporte (Guillette, 2006). Outros efeitos foram observados a nível endócrino em ratos, os quais sofreram uma redução dos níveis de iodo que consumiram (Guillette, 2005), já que este consegue inibir a sua fixação (Ward *et al.*, 2005). Foram observados, ainda, efeitos a nível da tiróide, não só nestes animais como também em

humanos, mamíferos e peixes (Guillette, 2005). Existem também estudos relacionados com o consumo de nitratos na água, os quais observaram malformações congénitas a nível do sistema nervoso central (Ward *et al.*, 2005).

- **Metais Pesados**

Recentemente, tem-se relacionado os metais pesados com alguns efeitos a nível da reprodução masculina, já que se observaram defeitos na espermatogenese em trabalhadores expostos e contaminados com estes elementos (Slowikowska-Hilczer, 2006). Seguidamente, sintetiza-se alguma informação sobre o chumbo (Pb), o cádmio (Cd) e o mercúrio (Hg).

• **Chumbo**

O chumbo tem muitas utilizações, como na produção de baterias, de soldadura, de ligas metálicas, de plásticos, de vidro, de esmaltes cerâmicos, de munições, de ornamentos e de protecções para fontes de radiação. Pode ainda ser utilizado em tintas e na gasolina. A sua combustão pode emitir pequenas quantidades deste metal. A contaminação da água pode também verificar-se, através de sistemas de bombagem com juntas de chumbo, ou mesmo através de condutas de transporte (NCEH, 2005).

A partir dos anos 80, na Europa, começa-se a restringir a quantidade de chumbo na gasolina e também o uso da mesma com este metal, através da Directiva 82/884/CE, de 3 de Dezembro de 1982. A proibição total da venda de gasolina com chumbo, neste continente, ocorre a partir da implementação da Directiva 98/70/CE, de 13 de Outubro de 1998 (transposta no nosso país como Decreto-Lei nº186/99, de 31 de Maio de 1999). A restrição do uso deste metal em equipamentos eléctricos e electrónicos é algo mais recente, tendo lugar no ano de 2002 (Directiva 2002/95/EC).

Este químico possui diversos efeitos na saúde, incluindo a interferência com alguns cationes, como o cálcio, o zinco e o ferro, importantes para o organismo; a inibição de certas enzimas; a ligação com proteínas; e a alteração da expressão genética. Os potenciais efeitos na reprodução prendem-se com o aumento do aborto espontâneo e problemas com a formação de esperma. A Agência Internacional para a Pesquisa do Cancro (*International Agency for Research on Cancer- IARC*) considera este elemento como um possível carcinogénico humano, embora considere que são ainda necessários outros estudos para uma relação mais consistente entre o chumbo e o cancro humano (NCEH, 2005).

A exposição de crianças a este metal é elevada, já que podem absorver 50% do chumbo presente na alimentação, enquanto um adulto assimila apenas 10% (Ambiente online, 2007). Este metal pesado pode ainda interferir com o desenvolvimento cerebral das crianças, chegando a diminuir os valores de QI o que se poderá verificar a partir de 5 µg/dl de chumbo no sangue (WHO, 2004).

Como se pode observar na Figura 1.1.2, ainda existem bastantes países da Europa, conhecidos como países de Leste, onde a exposição de crianças a este metal é elevada. Este facto pode dever-se à não substituição de combustíveis com chumbo ou até o uso de tintas que o incluem na sua composição.

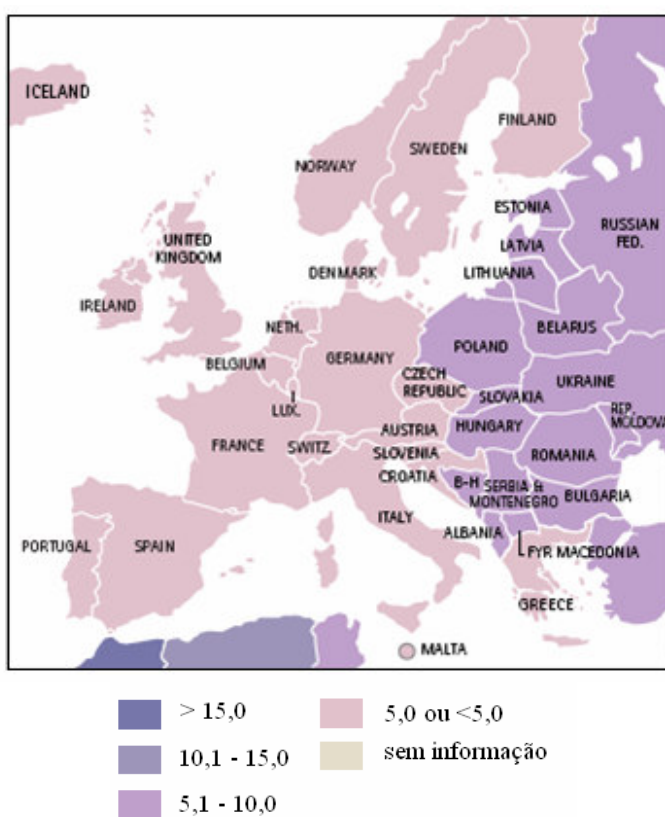


Figura 1.1.2 – Concentração de Chumbo no sangue de crianças (µg/dl; WHO, 2004)

• Mercúrio

O mercúrio é um metal que ocorre naturalmente, podendo apresentar-se em formas orgânicas, inorgânicas e elementares. A forma elementar é utilizada para produzir gás clorídrico e soda cáustica em aplicações industriais. É também utilizada em equipamentos eléctricos, lâmpadas, termómetros, barómetros e amálgamas dentárias. Por sua vez, o mercúrio inorgânico é utilizado na produção de baterias e pigmentos. As utilizações farmacêuticas deste químico

têm sido muito reduzidas, mas ainda são utilizados alguns compostos com mercúrio como antisépticos. Nalguns países é utilizado em cremes corporais e em medicinas tradicionais (NCEH, 2005).

A libertação de mercúrio para o ar dá-se pela combustão de combustíveis fósseis, incineração de resíduos sólidos e durante a extracção de minério. Após ser libertado para o ar, pode depositar-se na água e no solo, podendo ainda a água ser contaminada pela descarga directa de processos industriais. A bioacumulação deste elemento dá-se através do metabolismo dos microrganismos que o transformam num composto orgânico, podendo permanecer nas cadeias alimentares aquáticas e terrestres. Assim, a maior fonte de mercúrio para o ser humano resulta da alimentação com peixe, estimando-se que em média, as mulheres com idades compreendidas entre os 16 e 49 anos tenham ingerido 1,22µg/dia, no período de 1999 a 2000. Outra fonte é constituída por amálgamas dentárias, que poderão conduzir a uma exposição diária da ordem de 1-5µg (NCEH, 2005).

Os efeitos na saúde provocados por mercúrio são vários, dependendo da forma em que se encontrava aquando da exposição e da duração desta. O mercúrio pode afectar os sistemas neurológico e reprodutor. Em estudos recentes, foi associado o aumento de risco de anomalias neurocognitivas em crianças, com o consumo materno de peixe contaminado (NCEH, 2005). Outros efeitos relacionados com este metal são as doenças autoimunes. Estudos feitos em laboratório com ratos indicam que este metal pode induzir este tipo de doenças assim como hiper-estimular a formação de linfócitos ou respostas imuológicas anormais, através da modificação de proteínas (Inadera, 2006).

O consumo de peixe do Mar Báltico tem constituído uma fonte de metil-mercúrio (MeHg) e como consequência, um elevado consumo de peixe pode implicar o dobro do nível habitual deste químico no organismo. Estudos realizados em seres humanos, demonstraram que o mercúrio influencia de maneira negativa a reprodução masculina, já que foram encontrados níveis elevados de MeHg em homens inférteis ou subférteis. No entanto, Rignell-Hydbom *et al.*, (2007) realizaram um estudo com 195 suecos, expostos ao MeHg pela alimentação (Mar Báltico), e os efeitos a nível da reprodução não demonstraram relação directa com a exposição e os efeitos apresentados, pelo que são necessários novos estudos que possam ser mais conclusivos.

- **Cádmio**

A utilização do cádmio é feita, essencialmente, na produção de baterias, em pigmentos, em revestimentos e em chapas. É ainda utilizado como estabilizador de plástico e em ligas não ferrosas. O seu uso tem vindo a diminuir, cerca de 70% de 2001 a 2004, devido a preocupações ambientais. As emissões deste metal para o Ambiente ocorrem através da produção de chumbo e cobre, da incineração de resíduos municipais e de refinarias petrolíferas. A absorção do cádmio dá-se através da inalação e ingestão. Como fonte de inalação mais directa está o consumo de tabaco. Nos Estados Unidos da América estima-se que a absorção através dos alimentos varia de 18,9µg/dia ou 0,4µg/kg.dia (NCEH, 2005). A presença deste metal nos alimentos ocorre principalmente na forma de sais de cádmio (Omaye, 2004).

Os mecanismos de toxicidade do cádmio não são ainda bem conhecidos, embora existam factores chave que se centram na perturbação de processos bioquímicos dependentes do zinco, na indução de stress oxidativo, em expressões genéticas irregulares, e em efeitos estrogénicos, uma vez que consegue imitar alguns efeitos do estradiol (Slowikowska-Hilczer, 2006), ou da alteração da sinalização das células e da síntese de esteroides (NCEH, 2005). Os seus efeitos prendem-se com o sistema reprodutor, já que está associado à destruição celular, designadamente das células espermatozóides (Slowikowska-Hilczer, 2006).

- **Compostos naturais**

Existem compostos naturais com propriedades de desregulação, como os fitoestrógenos, que possuem actividade hormonal, sendo encontrados em plantas, como a genisteína e a daidzina (NIEHS, 2007). A sua função consiste na protecção da planta contra a radiação UV, podendo actuar como herbicida, regular as hormonas das plantas e afastar herbívoros (Berkett *et al.*, 2003). Geralmente estes compostos são menos potentes que o estrogéneo, encontrando-se no entanto em maiores quantidades (100 a 1000 vezes a concentração de estrogéneo endógeno) (NCEH, 2005).

A maior classe de fitoestrogénios que se pode encontrar nas plantas são as isoflavonas (Jefferson *et al.*, 2007), as quais se encontram em legumes, principalmente sementes de soja e produtos compostos por esta, como farinha de soja e proteínas isoladas de soja que são utilizadas para substituir a carne, para produção de pão e barras energéticas. Mas a maior fonte de isoflavonas são as folhas de “trevos vermelhos” (muitas vezes alimento de ovelhas), havendo ainda alguns precursores de genisteína em frutas cítricas (NCEH, 2005). A exposição

aos fitoestrogéneos através dos alimentos depende dos hábitos alimentares das diferentes populações (Mendes, 2002), mas esta constitui a principal via.

Níveis elevados de isoflavonas podem ser encontrados no leite materno, devido à alimentação, com soja, que, há alguns anos, era utilizado como medida preventiva de cancro da mama. Outra fonte de fitoestrogénio para as crianças é o leite em pó à base de soja, produzido com proteínas de soja (Borgert *et al.*, 2003; Jefferson *et al.*, 2007), e que é administrado quando existem problemas de alimentação (Chen e Rogan, 2004). Como a biotransformação intestinal em lactantes é reduzida, estes acumulam maior quantidade de isoflavonas durante esta fase do crescimento (Borgert *et al.*, 2003). Os principais componentes do leite de soja são a genisteína e a daidzina. A genisteína é estruturalmente similar ao estradiol, pelo que se liga facilmente ao receptor do estrogénio e possui tanto actividade agonista como antagonista (Chen e Rogan, 2004). O leite em pó à base de soja pode resultar numa concentração de isoflavonas de 13.000 a 22.000 vezes superior à do estrogénio encontrado nestas (NCEH, 2005). Um adulto, com uma dieta modesta em soja, está exposto a 1mg/kg.dia de isoflavonas, enquanto uma criança que consome leite em pó à base de soja está exposta de 6 a 11 mg/kg.dia (Jefferson *et al.*, 2007).

As proteínas da soja contendo isoflavonas estrogénicas, foram associadas ao aumento dos ciclos menstruais nas mulheres (Mendes, 2002; Chen e Rogan, 2004). No entanto, existe alguma controvérsia sobre os efeitos destes compostos, pois existem experiências que demonstram efeitos tanto anti-cancerígenos como estimulantes. Contudo comparando dietas asiáticas com as ocidentais, tendo as primeiras um consumo mais elevado de soja, verifica-se constantemente uma menor incidência de sintomas de menopausa (NCEH, 2005). Ainda assim, são conhecidos efeitos adversos na fertilidade, como verificado em ovelhas com alimentação à base de soja, que apresentaram reduzida fertilidade (Jefferson *et al.*, 2007).

Experiências realizadas com ratos, utilizando tratamentos subcutâneos de genisteína, demonstraram efeitos adversos na fertilidade e nas glândulas mamárias, assim como na função dos ovários (Akingbemi, 2005; Jefferson *et al.*, 2007). Outros estudos demonstraram efeitos hiper-masculinizantes, na zona cerebral correspondente à diferenciação sexual (Patisaul *et al.*, 2007). Este composto, conhecido como desregulador de hormonas sexuais, também se encontra relacionado com alterações nos níveis da tiróide no ser humano e em animais (Schmutzler, *et al.*, 2004).

1.1.2 Dose-Resposta e Exposição em Crianças

O estabelecimento de limites máximos e mínimos de exposição é muito difícil de definir, já que a relação dose-resposta não se encontra totalmente esclarecida, sendo objecto de bastantes controvérsias (Reys, 2001; IPCS, 2002). O maior problema, deve-se ao poder das hormonas endógenas, afectadas pelos desreguladores endócrinos, ser superior a estes e por já existirem no organismo aquando da “contaminação” (IPCS, 2002). Assim, admite-se que estes compostos actuam de forma aditiva (Markey *et al.*, 2003). Como as hormonas endógenas actuam a níveis muito baixos (partes por trilião), considera-se que pequenas doses de químicos hormonalmente activos sejam razão para preocupação, principalmente se ocorrerem durante etapas chave do desenvolvimento fetal (Solomon, 2000; Martin *et al.*, 2005). Outro factor que afecta esta relação é a heterogeneidade da população, sendo difícil generalizá-la (IPCS 2002). Ou seja, podem verificar-se respostas diferentes nos vários órgãos e tecidos, pelo que não se poderá esperar que diversas consequências estejam relacionadas com a mesma dose-resposta (Borgert *et al.*, 2003). Assim, foi proposta para a acção do estrogéneo nos tecidos reprodutores, uma curva de dose-resposta em forma de U invertido (Akingbemi, 2005), onde doses pequenas e elevadas serão estimulantes ao contrário do intervalo de doses médias (Merkey *et al.*, 2003). No entanto, é normal admitir que, se não se registrarem efeitos adversos a doses elevadas, estes também não serão detectados a doses mais baixas (Omaye, 2004). Assim, ainda que não se conheçam as doses que devem gerar efeitos no ser humano ou em animais, admite-se que o momento em que ocorre a exposição é muito importante (Solomon, 2000; Reys 2001; IPCS 2002).

A exposição a compostos desreguladores endócrinos durante a gestação pode ter efeitos a longo prazo, pelo que se considera que a maioria dos efeitos endócrinos que os adultos, humanos e animais, apresentam se deva à exposição a estes químicos durante aquela etapa do crescimento (Reys, 2001; IPCS 2002; Sharpe, 2003; Cowin *et al.*, 2004; Slowikowska-Hilczer, 2006; Janssen *et al.*, 2007). Esta etapa é caracterizada por um rápido desenvolvimento e crescimento, o que aumenta a vulnerabilidade do feto. O facto de também não possuírem ainda vias de excreção devidamente desenvolvidas, de terem baixos níveis de proteínas ligadas (facilitando a ligação do químico às mesmas) e terem a barreira cerebral pouco desenvolvida (tendo o sistema nervoso desprotegido), faz com que sejam alvos fáceis destes xenobióticos (Janssen *et al.*, 2007). O contacto entre estes compostos e o feto dá-se através da progenitora, uma vez que os compostos podem atravessar a placenta (Reys 2001; Sharpe, 2003). Uma forma de biomonitorização da exposição fetal aos desreguladores endócrinos é a análise ao

sangue existente no cordão umbilical, onde se têm encontrado vários compostos, como pesticidas, plastificantes, metais pesados entre outros (Janssen *et al.*, 2007).

Durante a ontogénese dá-se o desenvolvimento do organismo, desde a fecundação, passando pela fase embrionária até à definição total do mesmo (Médicos de Portugal, 2007). A exposição a agentes ambientais e químicos, com propriedades de desregulação endócrina, durante estas fases críticas, leva a mudanças epigenéticas. Estas constituem alterações na expressão genética sem alteração das sequências do ADN, podendo ser transgeracionais e portanto herdadas pelos descendentes durante o desenvolvimento embrionário. No entanto, nem todas as mudanças epigenéticas são transgeracionais, sendo dependentes do sistema epigenético afectado, da fase ontogenética em que ocorre a mudança e da persistência do estímulo através das gerações (Guerrero-Bosagna e Valladares, 2007).

Após o nascimento, as crianças podem ainda ser afectadas por estes compostos, através da amamentação (Reys, 2001; Massart *et al.*, 2005, Janssen *et al.*, 2007), dado que são acumuláveis nos tecidos gordos da progenitora e o leite materno é relativamente rico em gordura. A amamentação é considerada uma via de excreção, pelo que os químicos liposolúveis podem ser transportados até à gordura presente no leite sendo eliminados por esta via e atingindo o lactante (Omaye, 3004; Massart *et al.*, 2005). Um dos primeiros estudos realizados para averiguar a presença de químicos ambientais, como os organoclorados no leite materno, foi publicado em 1951 e os resultados obtidos indicaram a presença de DDT (Borgert *et al.*, 2003). Pensa-se que as concentrações de DDT no leite possa encurtar o período de amamentação, pois afecta a respectiva síntese. Rogan e Ragan (2007) observaram a diminuição do tempo da amamentação nas mães com elevados níveis de DDE. No entanto, apesar destas evidências, o leite materno continua a ser o melhor alimento para recém nascidos e crianças (Massart *et al.*, 2005), já que não constitui apenas uma fonte de nutrientes, como tem benefícios a nível emocional, neurológico e imunológico (Janssen *et al.*, 2007). O elevado uso de DDT em Africa tem provocado uma grande polémica, já que é um pesticida importante no controlo de mosquitos (vectores de doenças como a malária), mas leva ao aumento da sua presença no leite materno, alimento essencial para a sobrevivência de recém nascidos (Rogan e Ragan, 2007).

1.2. Efeitos no Homem

A crescente preocupação com a existência de químicos desreguladores endócrinos prende-se, principalmente, com os efeitos que estes poderão ter no ser humano, nomeadamente os que afectam o sistema reprodutor, masculino e feminino, o sistema imunitário, o sistema neurológico e hormonal (Reys, 2001; IPCS, 2002; Safe, 2000; Solomon, 2000; Mendes, 2002). Apesar de não haver certezas absolutas, ou dados concretos, sobre a relação dose-efeito, existem muitos estudos realizados na última década, que apontam este tipo de químicos como principal causa. Testes laboratoriais em animais (*in vitro* e *in vivo*) poderão contribuir para estabelecer relações entre efeitos observados e os compostos desreguladores endócrinos (IPCS, 2002).

Tem-se verificado, nos últimos 70 ou mais anos, um aumento da incidência de efeitos no ser humano, principalmente relacionados com duas hormonas (estrogéneo e androgénio), nomeadamente o cancro da mama e o “Síndrome da Disfunção Testicular” (*testicular dysgenesis syndrome*), que compreende a baixa qualidade de esperma, o cancro dos testículos, a criptorquidia e a hipospádia (Sharpe, 2004; Slowikowska-Hilczer, 2006), principalmente em países desenvolvidos (Safe, 2004).

Os efeitos observados podem agrupar-se segundo o sistema orgânico que afectam, como a seguir se indica:

- Reprodução:
 - o Fertilidade e Rácio Sexual
 - o Qualidade do esperma
 - o Anomalias no órgão reprodutor masculino
 - o Endometriose
 - o Outros
- Sistema Neurológico
- Sistema Imunitário
- Cancros
 - o Mama
 - o Endometrial
 - o Testículos
 - o Próstata
 - o Tiróide

- Obesidade

Muitos dos efeitos a seguir apresentados são devidos a acidentes e, conseqüentemente, a níveis de exposição elevados. No entanto, os efeitos possivelmente originados por níveis de exposição mais baixos são pouco documentados, pelo que se torna difícil expressar a associação entre ambos (IPCS, 2002). Tendo em conta que as hormonas actuam a níveis extremamente baixos (partes por trilião), pode esperar-se que exposições a níveis baixos de agentes hormonais activos sejam preocupantes, principalmente durante o desenvolvimento fetal (Solomon, 2000). Actualmente, existem dados que sugerem que os químicos, quando administrados isoladamente em doses reduzidas, não originam efeitos adversos, pelo que os efeitos a doses elevadas ocorrem após exposição a uma mistura de muitos químicos em baixas doses (Fisher, 2004).

1.2.1 Reprodução

A diferenciação dos órgãos sexuais ocorre durante o desenvolvimento fetal, envolvendo mecanismos genéticos e endocrinológicos. As gônadas libertam, durante esta etapa, pequenas quantidades de hormonas reprodutivas, as quais irão garantir o fenótipo feminino ou masculino do indivíduo e a diferenciação sexual a nível do sistema neurológico (Pereira, 2003), pelo que, a exposição nesta etapa pode trazer efeitos adversos a nível destes órgãos (IPCS, 2002). Experiências realizadas em laboratório, indicam que machos expostos a vinclozina (herbicida) não sejam escolhidos pelas fêmeas para acasalar, ou seja afecta a diferenciação sexual ao nível do sistema nervoso (The Endocrine Society, 2007).

Tanto o homem como a mulher produzem hormonas, masculinas (andrógenos) e femininas (estrogéneos), com funções essenciais em ambos (Slowikowska-Hilczler, 2006). No entanto, o importante para um bom funcionamento do organismo é o balanço existente em cada indivíduo entre as quantidades de cada hormona. Estas quantidades alteram-se durante o decorrer da vida e ao haver uma desregulação durante o desenvolvimento fetal, poderão ser originadas malformações nos órgãos sexuais (Cowin *et al.*, 2007). Assim, poderá supor-se que os órgãos sexuais podem ser afectados por desreguladores endócrinos *in utero*, havendo relações entre esta exposição e casos de anomalias reprodutivas no homem (Safe, 2004) e na mulher (Janssen *et al.*, 2007).

As malformações a nível do aparelho reprodutor masculino podem ser agrupadas, como foi referido, na síndrome da disfunção testicular. Na Figura 1.2.1, podem observar-se as possíveis causas e mecanismos que produzem esses sintomas.

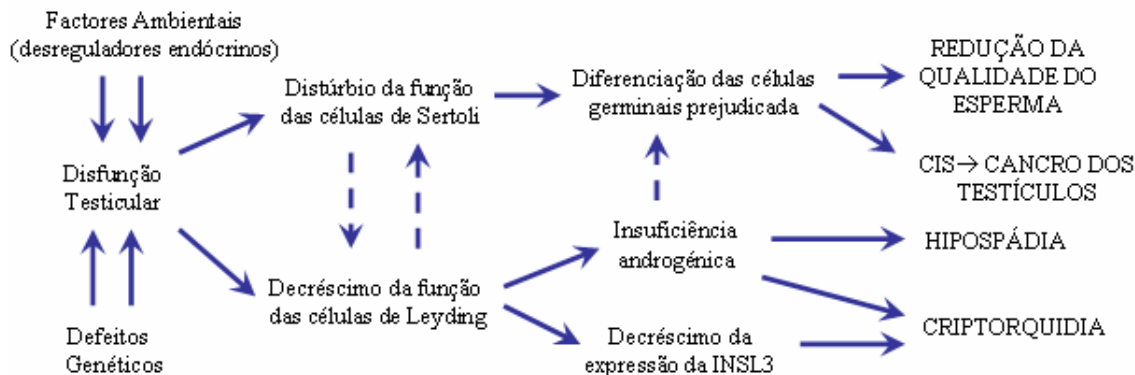


Figura 1.2.1 – Representação das possíveis causas e vias que levam à síndrome da disfunção testicular (adaptado de Bay *et al.*, 2006)

A disfunção testicular tem início durante a vida fetal e está associada a factores ambientais e hábitos de vida, assim como a desordens genéticas que prejudicam a produção e actividade do androgénio, durante aquele estágio do crescimento. O processo de desenvolvimento do pénis é dependente do androgéneo, pelo que um distúrbio hormonal pode levar à formação da hipospádia. Por seu lado, a descida dos testículos depende da hormona das células de Leyding, a INSL3 (*insulin-like-factor 3*), podendo conduzir a criptorquidia quando existe um decréscimo da função destas células. A maior parte dos casos de cancro dos testículos é originada a partir de células germinais que escaparam à normal diferenciação no útero, entrando em formação de neoplasmos (células de carcinoma-in-situ CIS) (Bay *et al.*, 2006).

Como foi referido anteriormente, um dos casos mais explícitos da acção de desreguladores endócrinos nos seres humanos, é o uso do fármaco DES. Um potente estrogéneo usado por grávidas, que originou mal formações a nível dos órgão reprodutores, assim como cancro nos seus descendentes (Reys, 2001; IPCS, 2002).

Existem evidências que os desreguladores endócrinos actuam por interacção com os receptores dos esteróides (ou das hormonas sexuais), envolvendo-se na acção dos mesmos (Fisher, 2004), pelo que os xenobióticos agonistas e antagonistas dos estrogéneos e androgéneos nos seres humanos tenham merecido maior atenção (Reys, 2001).

Entre os compostos que podem afectar o sistema reprodutivo humano estão os ftalatos, que podem modificar a produção de androgéneos e ter efeitos estrogénicos (Reys, 2001), levando a anomalias no sistema reprodutor (Fisher, 2004). Os alquilfenóis que possuem efeitos estrogénicos em vários organismos (Reys, 2001), o PCB, o BPA e o nonilfenol podem imitar a acção do estrogéneo e o DDT que pode inibir a ligação aos receptores do estrogéneo e da progesterona (CSTEE, 1999).

Estudos realizados em ratos, expostos a ftalatos *in utero*, demonstraram que estes desenvolveram criptorquidia, hipospádia, infertilidade e anomalias testiculares. O facto destes químicos anti-androgénicos poderem induzir efeitos da síndrome da disfunção testicular é de grande importância, já que os recém nascidos podem estar expostos a doses elevadas destes químicos através da amamentação (Bay *et al.*, 2006).

Seguidamente apresentam-se alguns exemplos de efeitos no sistema reprodutor humano:

- **Fertilidade e Rácio Sexual**

A infertilidade pode ser descrita como a incapacidade de um casal conceber um filho, num período de 1 ano de relações sexuais sem protecção. Este problema afecta entre 10 a 15 % dos casais e estima-se que mais de 50% se deve ao sistema reprodutor masculino (CSTEE, 1999). Existem muitos estudos sobre exposição accidental ou ocupacional que afecta a fertilidade. Entre eles estão alguns que relacionam este problema com a exposição a pesticidas, tanto pela mulher como pelo homem, demonstrando-se haver dificuldades em ambos os casos quando expostos a níveis elevados deste compostos (IPCS, 2002). Outros estudos relacionaram a exposição ocupacional a pesticidas e o aumento do tempo para engravidar, mas sem haver identificação individual dos compostos (Janssen *et al.*, 2007). Outras situações, prendem-se com a exposição a PCBs, por exemplo por alimentos contaminados, embora haja relação apenas com a exposição da mulher e não do homem (IPCS, 2002).

No acidente da Tailândia, acidente “Yu-Cheng”, envolvendo PCBs e os seus subprodutos, 2000 pessoas ingeriram óleo de arroz contaminado com este composto, dando lugar a que os homens expostos a este químico, *in utero* e após o nascimento, tivessem problemas de fertilidade (Hsu *et al.*, 2007). Em Hong-Kong, China, encontraram-se níveis elevados de mercúrio no sangue de mulheres com casos de infertilidade anormais. Estes níveis elevados de mercúrio foram associados ao consumo de peixe contaminado (Janssen *et al.*, 2007).

A proporção macho-fêmea, ou rácio sexual, pode ser utilizado como um indicador de fertilidade humana (CSTEE, 1999), podendo ser definida como a razão do número de nascimentos masculinos pelo número de nascimentos femininos (IPCS, 2002). Um declínio desta proporção, ou seja menos rapazes, tem sido registado em muitos países europeus, assim como americanos, ainda que noutras zonas se verifique uma tendência contrária. Estudos sobre a exposição ocupacional revelam que os pesticidas são os maiores responsáveis por este efeito na reprodução humana (IPCS, 2002; Rittler *et al.*, 2002). Relativamente à exposição accidental, tem-se o desastre de Seveso (Itália), em que a população ficou exposta a elevadas quantidades de dioxinas, TCDD, o que levou a um aumento do nascimento de raparigas, entre Abril de 1977 a Dezembro de 1984 (CSTEE, 1999; IPCS, 2002; Rittler *et al.*, 2002), numa proporção de 46 raparigas para apenas 26 rapazes (Rogan e Ragan, 2007). Os efeitos foram maiores entre os pais mais expostos aos químicos, sendo que nenhum dos 9 casais com níveis mais elevados de TCDD concebeu um único filho homem (IPCS, 2002). Também o acidente de Yu-Cheng teve consequências a nível do rácio sexual dos descendentes das pessoas expostas. No entanto, neste caso apenas se observou uma discrepância entre os nascimentos de raparigas e rapazes quando o pai foi exposto, não ocorrendo o mesmo quando a exposição ocorreu com a mãe (Rogan e Ragan, 2007).

Informações de vários países, como Dinamarca, Holanda, Canada e Estados Unidos da América, indicaram um decréscimo acentuado do nascimento de rapazes, durante os últimos trinta anos. Entre 1950 e 1994, os decréscimos registados foram de 0,515 para 0,513 na Dinamarca, de 0,516 para 0,513 na Holanda, sendo observados tendências similares no Canada e nos Estados Unidos da América (Rittler *et al.*, 2002).

- **Qualidade do esperma**

Durante os últimos 50 anos tem-se registado um decréscimo na qualidade do esperma humano, sendo posta a hipótese de exposição *in utero* a um estrogéneo ambiental (CSTEE, 1999; Reys, 2001; IPCS, 2002; Mendes, 2002; Saradha e Mathur, 2006). Esta afirmação é feita após uma análise de 61 estudos de contagem de espermatozóides, que incluiu aproximadamente 15 000 homens (CSTEE, 1999; Safe, 2000; Saradha e Mathur, 2006).

Embora uma baixa contagem não possa ser associada a infertilidade (CSTEE, 1999; Mendes, 2002), estudos demonstraram que concentrações menores que 40×10^6 /ml apresentam um baixo potencial de fertilidade (IPCS, 2002). No entanto, a contagem de espermatozóides e a sua mobilidade pode ser utilizada como biomarcador do funcionamento dos testículos e mais

precisamente da espermatogênese (IPCS, 2002). Este processo depende das células de Sertoli, pelo que qualquer agente xenobiótico que danifique a viabilidade e a função das mesmas irá alterar a formação de espermatozóides e assim diminuir a sua qualidade (Sharpe, 2003; Saradha e Mathur, 2006).

Ainda que existam estudos que mostram que não há um decréscimo na qualidade do esperma humano, outros demonstram a tendência desse decréscimo na Europa e Estados Unidos da América. Assim, estima-se que na Europa o declínio tenha sido de 3,5% por ano entre 1971 e 1990 e de 1,5% por ano entre 1938 e 1988 nos Estados Unidos da América (IPCS, 2002). Como se pode observar, não se torna fácil comparar e tirar conclusões de estudos realizados em anos diferentes e com durações diferentes, pelo que em geral é difícil traçar um plano mundial da situação, ainda que se tenha em conta a possibilidade de haver diferenças geográficas na qualidade do esperma (Safe, 2000; IPCS, 2002; Mendes, 2002).

As causas apontadas para este efeito prendem-se com factores genéticos, étnicos e alguma exposição a químicos (IPCS, 2002). Entre os casos de exposição tem-se a exposição laboral, como por exemplo no Canadá (IPCS, 2002) e no México (Saradha e Mathur, 2006), onde foram encontradas baixa concentração e motilidade dos espermatozóides em trabalhadores agrícolas. Também na Dinamarca foi verificada esta tendência após a época da aplicação de pesticidas no solo (Sharpe, 2003). Na Argentina, entre 1995 e 1998, compararam-se homens que estavam expostos a pesticidas e solventes, com outros que não tinham essa exposição, observando-se que os primeiros possuíam baixas percentagens de espermatozóides móveis e baixas concentrações de células espermatogénicas (Multigner *et al.*, 2002). Estudos norte-americanos mostram que na área do Missouri homens férteis possuíam níveis de espermatozóides 40% mais baixos que outros residentes em áreas urbanas e ainda elevadas concentrações de pesticidas na urina (Sharpe, 2004).

Por outro lado, tem-se verificado uma grande disparidade em relação às incidências de anomalias da disfunção testicular entre dois países vizinhos (Finlândia e Dinamarca). A qualidade do esperma não é excepção, pelo que esta é maior na Finlândia do que na Dinamarca. A concentração em jovens férteis encontrada foi em média de 54×10^6 /ml e 41×10^6 /ml, respectivamente (Virtanen *et al.*, 2005).

Realizaram-se estudos para averiguar a relação entre a exposição a químicos ambientais e o decréscimo da qualidade do esperma, tendo-se concluído que existe uma relação negativa entre a concentração de esperma e os compostos organoclorados (IPCS, 2002). Também os homens expostos a DES *in utero* foram alvo de estudos, obtendo-se resultados contraditórios, ou seja, uns apresentaram decréscimo da contagem de espermatozóides e outros não (CSTEE, 1999; IPCS, 2002), ainda que a fertilidade não tivesse sido afectada.

- **Hipóspadia e Criptorquidia**

A hipospádia é uma deformação, na qual o orifício da uretra não se encontra na cabeça do pénis mas sim por debaixo do mesmo (Safe, 2000; IPCS, 2002) e que afecta 0,8% e 0,4% de recém nascidos brancos e negros, respectivamente (Pohl *et al.*, 2007). Por seu lado, a Criptorquidia resulta da não descida dos testículos (Safe, 2000; IPCS, 2002) e é a anomalia mais frequente, manifestando-se em 1-5% dos nascimentos masculinos em todo o mundo (Pierik *et al.*, 2007; Pohl *et al.*, 2007). Para que este dano não ocorra é necessário um nível normal de andrógeno, que provoque a normal descida dos testículos (Cowin *et al.*, 2007).

Nos últimos anos tem-se verificado um aumento destas anomalias, ainda que seja sempre difícil relacioná-las com os desreguladores endócrinos (IPCS; 2002; Mendes, 2002; Bhatia *et al.*, 2005; Slowikowska-Hilczer, 2006). No entanto, como já foi referido, o desenvolvimento do órgão sexual masculino está sob o controlo de hormonas sexuais, pelo que as suas malformações se podem considerar como indicadores do distúrbio endócrino (IPCS, 2002). A elevada exposição a desreguladores endócrinos (estrogéneo e antiandrogéneo) *in utero* poderá originar estes efeitos (Toppari *et al.*, 2002; Bathia *et al.*, 2005; Carbone *et al.*, 2007), os quais são preocupantes, principalmente a criptorquidia que está associada ao cancro dos testículos (Toppari *et al.*, 2002; Huyghe *et al.*, 2003; Bathia *et al.*, 2005).

Vários estudos detectaram um aumento destas anomalias na descendência de trabalhadores agrícolas (Carbone *et al.*, 2007), tendo também sido observado na Noruega em rapazes nascidos em quintas onde foram usados pesticidas. Também na Colômbia, crianças descendentes de pais com exposição a pesticidas, como por exemplo DDT e o seu metabolito DDE (Bathia *et al.*, 2005), apresentaram defeitos urogenitais. Um estudo baseado em registos médicos, feito em Espanha, constatou um aumento do risco de criptorquidia em zonas de agricultura intensiva. Na Dinamarca, foi detectada uma associação entre mães jardineiras, com um aumento do risco dos filhos terem criptorquidia. Por seu lado, na Holanda encontrou-se uma relação entre a exposição paterna a pesticidas e o aumento do mesmo risco (Bay *et al.*,

2006). Um incremento desta anomalia tem vindo a ser registada em países como a Inglaterra e Escócia, Hungria e países escandinavos. No entanto, o mesmo não se observa em países como Finlândia, Espanha, Nova Zelândia, Austrália e Checoslováquia (Rittle *et al.*, 2002).

Por outro lado, foram identificados casos de mães que durante a gravidez praticaram uma alimentação vegetariana, possuíam um maior risco de dar à luz filhos com hipospádia, quando comparadas com mães com alimentação mais diversificada. Admite-se que tal observação seja consequência de maior exposição a fitoestrógeno nas mulheres vegetarianas (IPCS, 2002). Também aqui a exposição das mães ao DES levou a um aumento do risco de crianças com criptorquia e hipospádia (Sharpe, 2003; Carbone *et al.*, 2007).

- **Endometriose**

A endometriose caracteriza-se por um crescimento anormal de tecido endometrial fora do útero e é uma doença dependente do estrogéneo (IPCS, 2002; Mendes, 2002; Lima *et al.*, 2006; Šmuc *et al.*, 2007). A implantação do tecido endométrico ocorre durante a menstruação (Lima *et al.*, 2006) e pode ser encontrado nos ovários, no septo rectovaginal, no peritoneu pélvico e com menos frequência no pericárdio e na pleura (Šmuc *et al.*, 2007). Para além da dependência do estrogéneo, esta doença pode também estar relacionada com alterações profundas do sistema imunológico e do eixo hipotálamo-hipófise-ovário (Lima *et al.*, 2006) sendo os seus factores de risco genéticos, ambientais e imunológicos (Šmuc *et al.*, 2007). É actualmente a maior causa de infertilidade e afecta aproximadamente 14% das mulheres em qualquer idade reprodutiva (IPCS, 2002).

Actualmente, não existe consenso sobre os efeitos da pílula contraceptiva para esta doença, já que existem estudos que observam um agravamento e outros que mostram uma redução do risco de ter a doença. A relação entre a exposição a dioxinas e PCBs e este efeito também não é clara, já que existem estudos contraditórios (CSTEE, 1999; IPCS, 2002; Mendes, 2002). No entanto, parece haver consenso sobre a exposição *in utero* ao DES e o aumento da frequência desta doença nas mulheres (CSTEE, 1999; Mendes, 2002).

- **Outros (puberdade precoce, “síndrome do ovário policístico” e aborto espontâneo)**

O início da puberdade tem sofrido um adiantamento, ocorrendo em geral 1 a 2 anos antes do pré-estabelecido (Alves *et al.*, 2007). A melhoria da qualidade de vida poderá ser uma explicação, mas cada vez mais se admite a exposição a químicos ambientais como uma causa responsável por esta precocidade (Alves *et al.*, 2007; Janssen *et al.*, 2007).

Em Milão, no fim dos anos 70, detectaram-se crianças com um desenvolvimento precoce dos seios (telarca e ginecomastia), que em pouco tempo se normalizou. No entanto, foi encontrado um aumento nos níveis de 17- β -estradiol nas mesmas, relacionando-se com o consumo de aves ou carne bovina contaminada por estrogéneo (Alves *et al.*, 2007). Também no Michigan, as raparigas descendentes de mães expostas a alimentos contaminados, com um retardante da combustão, possuíam elevados níveis do mesmo no organismo e apresentaram menstruações um ano antes do que as que tinham níveis mais baixos (Janssen *et al.*, 2007). No Bahrein, por volta dos anos 80, foram relatados oito casos de rapazes com ginecomastia após a ingestão de leite de vaca contaminado com etinilestradiol, o que mais tarde desapareceu devido à suspensão do seu consumo. Em Porto Rico, pela mesma altura, foram detectados casos de telarca precoce em 375 pacientes, onde 61% possuíam quistos nos ovários, sugerindo uma relação dos quistos com a exposição prolongada ao estrogéneo. Nesta altura utilizavam-se zeranol e dietilestibestrol na produção de carnes (Alves *et al.*, 2007), e havia elevado consumo de leite em pó à base de soja (Borgert *et al.*, 2003), podendo então ser estas as causas.

O consumo elevado de soja ou de produtos derivados, e como tal com elevada quantidade de fitoestrogéneo, foram associados a casos de telarca precoce. No Brasil, foi realizado um estudo para avaliar o consumo destes estrogéneos naturais por uma criança de 4 anos e 9 meses de idade, a qual apresentava telarca. A sua alimentação era baseada em alimentos ricos em soja, como farinha caseira (grão de bico, arroz integral e feijão de soja), proteína de soja e linhaça (um suplemento comercial à base de soja), leite e sumo de soja, soja tostada e molho à base de soja (*shoyu*). Foi assim calculado que esta criança estava exposta a 44,8 mg de fitoestrogéneo por dia, o que equivale ao consumo das crianças alimentadas com fórmulas à base de soja (40 mg/dia) e aos japoneses (25 a 100 mg/dia). Após a redução da quantidade exposta, a criança apresentava uma estabilização no desenvolvimento puberal, na avaliação feita aos 8 anos e 8 meses. Ainda que os fitoestrogéneos sejam menos potentes que o estradiol, a sua concentração pode ser 13.000 a 22.000 vezes superior em crianças alimentadas com fórmulas lácteas à base de soja (Fortes *et al.*, 2007).

O síndrome do ovário policístico é caracterizado por anormalidades hormonais (um excesso de androgéneo), ovários policísticos e ciclos menstruais irregulares ou ausência dos mesmos. É o efeito endócrino mais comum nas mulheres e pode ser associado à infertilidade ou à puberdade precoce. É considerado como sendo uma predisposição genética, pelo que se pode falar da actuação de agentes ambientais *in utero* ajudando a esta condição genética. Tem sido

ainda relacionado com a exposição a elevados níveis de androgéneo durante esta fase fetal, embora não sendo a mãe a fonte, senão os ovários do feto ou a sua própria glândula adrenal. Foram ainda encontrados níveis elevados de BPA em mulheres com este síndrome (Janssen *et al.*, 2007).

A progesterona é essencial para a maturação dos oócitos e para manutenção da gestação na maioria dos vertebrados, pelo que, uma desregulação das respectivas mensagens, pode afectar a frequência de abortos espontâneos. Esta desregulação pode ser feita por poluentes ambientais, como o DDT e seus metabolitos, os quais possuem a capacidade de se ligarem ao receptor da progesterona (Guillette, 2006). A exposição a pesticidas, tanto materna como paterna, pode levar a um aumento no risco de aborto espontâneo (IPCS, 2002; Clementi *et al.*, 2007).

Um estudo realizado em famílias agrícolas de Ontário conseguiu relacionar este efeito com a exposição a pesticidas em ambos os sexos dos progenitores (Janssen *et al.*, 2007). Outros estudos demonstram que a exposição paterna ao ácido 2,4-Diclorofenoxacético, assim como ao dibromodichloropropano (DBCP), também elevam o risco de abortos espontâneos. Níveis elevados de DDT foram encontrados no sangue de mulheres que sofreram abortos espontâneos na Índia, o que se poderá explicar pela capacidade dos organoclorados atravessarem a placenta e contaminarem o feto (IPCS, 2002). Também a exposição a metais pesados está relacionada com casos de abortos espontâneos, sendo encontrada uma relação entre o chumbo e este efeito num estudo realizado na cidade do México. No entanto, não só este metal poderá ter este efeito, mas ambas as formas de mercúrio, orgânica e inorgânica, e ainda o arsénio podem também ser responsabilizados (Janssen *et al.*, 2007).

1.2.2 Sistema Neurológico

O sistema nervoso, em conjunto com os sistemas endócrino e imunitário, garante importantes funções fisiológicas do corpo para o seu normal desenvolvimento, para as funções cognitivas e de comportamento. A forma como as funções neurológicas são afectadas não decorre directamente dos poluentes, mas através de uma variedade de mecanismos neuro-endócrinos que levam a alterações funcionais (IPCS, 2002).

Durante os anos 70 dá-se, o que parece ser, um aumento de casos raros de neuro-desenvolvimento, que alertam os profissionais de saúde e 20 anos mais tarde dificuldades de aprendizagem, autismo, hiperactividade, cancro, diabetes juvenis e delinquência juvenil,

tornam-se conhecidos (Colborn, 2004). Estes efeitos podem estar relacionados com exposição a compostos como pesticidas organoclorados (DDT ou DDE), fungicidas, PCBs, dioxinas e ainda dibenzofuranos (IPCS, 2002; Mendes, 2002; Ludqvist *et al.*, 2006).

Os efeitos tóxicos destes compostos são, geralmente, reversíveis nos adultos, mas quando o cérebro se encontra em desenvolvimento, estes podem permanecer e resultar em défices funcionais (Solomon *et al.*, 2000), pelo que a exposição de crianças é muito preocupante. Os descendentes de mães expostas a níveis elevados de PCB/PCDF foram avaliados, tendo atrasos no desenvolvimento mental, apresentando valores de QI baixos, assim como fraca memória visual e dificuldades de comportamento. A presença destes químicos no leite materno levou à redução da função neurológica de recém nascidos (Mendes, 2002). Os efeitos das dioxinas e PCBs representam modificações específicas na função da memória, embora os PCBs pareçam ter um efeito mais claro na transmissão neurológica, na memória e aprendizagem do que as dioxinas (Ludqvist *et al.*, 2006). No entanto, são necessários mais estudos para se poder relacionar estes químicos, PCB/PCDF/PCDD/PBDE, com efeitos originados por mecanismos endócrinos (Mendes, 2002).

Os acidentes, já referidos anteriormente, ocorridos na Tailândia em 1979, “Yu-Cheng” e no Japão, “Yusho”, originaram efeitos nos adultos expostos, ao nível do sistema nervoso central e periférico, incluindo enxaquecas, perdas de memória e nevralgia do sistema límbico (IPCS, 2002). As crianças, por seu lado, apresentaram, vários anos depois, um atraso no crescimento, movimentos descoordenados, um QI baixo (Porterfield, 2000; IPCS, 2002) e atrasos no desenvolvimento sexual (Aoki, 2000). Um estudo holandês observou um significativo atraso no desenvolvimento psicomotor de crianças expostas a baixos níveis de PCBs, PCDDs e PCDFs, antes e depois do seu nascimento (Mendes, 2002). Também no lago Michigan, contaminado com PCBs, houve registo de descendentes alimentados com leite materno contaminado, que apresentaram baixos QI, atrasos na compreensão da leitura, assim como atrasos no desenvolvimento e crescimento (Aoki, 2000).

Um dos possíveis mecanismos para os efeitos no sistema neurológico é a desregulação da tiróide, a qual é muito importante para o desenvolvimento normal do cérebro, tanto em humanos como em animais, principalmente durante a fase fetal e neonatal. A sua deficiência origina graves lesões a nível cerebral, sendo o cretinismo, uma das mais importantes, originado por uma deficiência de iodo. Uma alimentação da progenitora pobre em iodo leva a

que o descendente tenha baixos níveis de hormonas da tiróide, o chamado hipotiroidismo. O cretinismo endémico origina atrasos mentais, problemas de coordenação motora, dificuldade de aprendizagem e problemas de memória. Quando o hipotiroidismo se encontra presente na criança após o nascimento, porque a deficiência de iodo não foi corrigida a tempo, haverá problemas de crescimento e atrasos ou ausência de maturação sexual na criança (Porterfield, 2000; Zhou *et al.*, 2002).

Os efeitos originados pela exposição a PCBs e dioxinas no acidente Yu-Cheng, acima descritos, podem ter sido gerados pela semelhança entre estes químicos e a estrutura das hormonas activas da tiróide. Esta semelhança pode levar a desregulação endócrina, já que estes químicos também se conseguem ligar às proteínas específicas destas hormonas (Porterfield, 2000). No entanto, não só o PCB e as dioxinas estão relacionados com a desregulação da tiróide, mas segundo Zhou *et al.*, também os retardantes de combustão como os PBDEs o podem fazer. Estes autores realizaram um estudo com ratos expostos a este químico e verificaram que os animais expostos a PBDEs tinham uma actividade hepática mais elevada do que os ratos usados para controlo. A actividade hepática foi escolhida como indicador da desregulação endócrina da tiróide.

1.2.3 Sistema Imunitário

O sistema imunitário, assim como o sistema nervoso central, desempenham um papel importante no equilíbrio hormonal e na defesa do corpo humano. A influência que o sistema nervoso central tem sobre o sistema imunitário dá-se através de uma série de hormonas controladas pelo eixo das glândulas hipotálamo-pituitária-adrenal. A pituitária segrega hormonas, como a prolactina e a hormona do crescimento. Deficiências nesta última levam a uma baixa contagem de células na medula óssea, no timo e enfraquecem a função das células T (um tipo de linfócitos). Por sua vez, a inibição da prolactina leva à supressão das respostas da imunoglobina e das células imunitárias (Mašek *et al.*, 2003). Esta supressão leva a casos de infecções respiratórias, desenvolvimento de alergias, asma e problemas gastrointestinais (Tryphonas, 2001).

As hormonas esteroides podem influenciar os níveis de prolactina, onde o estrogéneo leva ao seu aumento e os glucocorticoides à sua inibição. Sob controlo do hipotálamo está a hormona da tiróide que é muito importante para o bom desenvolvimento do timo. Este é o órgão mais importante do sistema imunitário celular, já que fornece um ambiente específico para o

crescimento dos linfócitos e produz péptidos que influenciam as funções hipotalâmicas e imunitárias (Mašek *et al.*, 2003).

As hormonas sexuais têm um papel importante no que respeita às doenças imunológicas, estando implicadas na resposta imunológica, funcionando o estrogéneo como um potenciador da imunidade humoral e o androgéneo e a progesterona como imunossuppressores naturais. Níveis baixos de androgéneo, assim como do rácio androgéneo/estrogéneo, foram detectados no sangue de doentes com artrite reumatóide e lúpus (doenças do fórum imunológico). Estas verificações revelam a necessidade de ter atenção ao administrar estrogéneo a pacientes com doenças autoimunes (Cutolo *et al.*, 2004).

Estudos realizados em animais indicam que compostos como TCDD e o PCB afectam principalmente o sistema imunitário. Os efeitos desenvolvidos podem ser originados por uma redução na resistência à infecção microbiológica, ao aumento de desordens autoimunes e a problemas nos mecanismos de vigilância imunitária. O TCDD pode atrofiar o timo, levando à diminuição dos linfócitos. Em relação aos PCB, tem-se o registo dos acidentes de “Yusho” e “Yu-Cheng”, os quais também originaram efeitos a nível do sistema imunitário na população contaminada. No caso de Yusho as pessoas apresentaram baixos níveis de imunoglobina e uma elevada frequência de infecções respiratórias. Igualmente, nas pessoas afectadas no acidente de Yu-cheng, também se observou decréscimo nos valores de imunoglobina, e ainda de linfócitos e leucócitos. Estudos realizados em mulheres que consumiram peixe contaminado do “Great Lake” e como tal possuíam níveis elevados de PCB durante a gravidez, levaram a que os seus descendentes, alimentados pelo seu leite contaminado, tivessem um enorme número de infecções. Esta exposição é crítica, já que nesta altura o sistema imunitário da criança está ainda em desenvolvimento. Outro estudo realizado na Holanda, também aqui em crianças expostas a PCB pelo leite materno, indicou que estes possuíam problemas no seu sistema imunitário humoral. No acidente de Seveso, já referenciado, as crianças expostas apresentaram um aumento da actividade proliferativa de linfomas, seis anos após a exposição. Também os compostos organoclorados, como pesticidas, influenciam o sistema imunitário, sendo observadas alterações nos níveis de imunoglobina em trabalhadores expostos a estes compostos, levando ao aumento de problemas respiratórios. Como seria de esperar, os metais pesados também possuem acção sobre este sistema, afectando os níveis de imunoglobina e linfócitos (Tryphonas, 2001).

1.2.4 Cancro

Estudos experimentais *in vivo* e *in vitro* demonstram a potencia proliferativa e carcinogénica do estrogéneo. Assim, existe uma possível relação entre a exposição ao estrogéneo ou a xenoestrogéneos e o cancro (Muñoz-de-Toro *et al.*, 2006).

A dose e a altura em que ocorre a exposição aos desreguladores endócrinos são muito importantes, pois os efeitos cancerígenos observados em muitos indivíduos podem ter sido activados durante a gestação. Estes compostos conseguem desprogramar o ADN, tornando os genes mais sensíveis ao estrogéneo, levando a que activem e produzam mais genes do que deviam, originando o crescimento de tumores (The Endocrine Society, 2007).

Os tipos de cancros que mais aumentaram ao longo dos anos foram o da mama, dos testículos e da próstata. Todos eles são característicos de um certo grupo etário, como se observa na Figura 1.2.2. Assim, o cancro da mama e dos testículos é característico em mulheres e homens jovens e o da próstata em homens de uma certa idade, cuja razão será posteriormente analisada.

Incidência de Cancro na União Europeia (15) (1997)

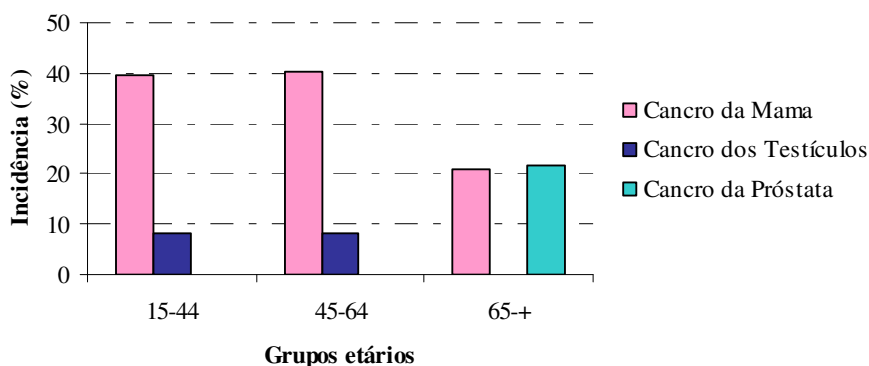


Figura 1.2.2 – Variação da incidência do cancro da mama, testículos e próstata segundo a idade (adaptado de ECL, 2005)

Entre os tipos de cancro relacionados com a desregulação do sistema endócrino são seguidamente apresentados, nomeadamente o cancro da mama, o cancro endometrial, o cancro dos testículos, o cancro da próstata e o cancro da tiróide.

- **Cancro da Mama**

A administração crónica de químicos com propriedades estrogénicas em grandes doses ou quando presentes durante longos períodos de tempo e em quantidades anormais, promove a carcinogénese da glândula mamária, e aumenta o crescimento da resposta do estrogéneo ao cancro. Os químicos carcinogénicos agem numa variedade de formas, sendo alguns mutagénicos interagindo com o ADN, enquanto outros não o atacam actuando completamente (Mathur *et al.*, 2002). Estas acções levam a que as células cancerígenas se dividam mas rapidamente do que as células normais, podendo originar tumores, pensando-se que este seja o papel do estrogéneo (Mathur *et al.*, 2002; Mitrunen *et al.*, 2003). Estudos recentes, afirmam que os metabolitos do estrogéneo também actuam como iniciadores das alterações celulares (Mitrunen *et al.*, 2003). Assim, é normal afirmar-se que o cancro da mama é dependente do estrogéneo, nem que seja apenas no início (Waring e Harris, 2005).

Novas observações indicam que a interferência que o estrogéneo tem nas funções celulares do sistema imunitário pode ter um papel importante no desenvolvimento e progressão do cancro da mama. Descobriu-se também que o estrogéneo induz a expressão de um gene, descoberto recentemente em humanos, para a inibição da síntese de proteínas. Quando o estrogéneo se liga ao receptor da célula cancerígena, o complexo resultante promove a produção do inibidor, levando a uma redução da destruição das células cancerígenas, sendo os níveis de estrogéneo necessários para induzir o inibidor muito baixos. Os compostos estrogénicos como o DDT e as dioxinas podem também impedir a protecção imunitária contra as células cancerígenas mamárias (NIEHS, 2007).

Um estudo feito na Índia, com aproximadamente 135 mulheres com cancro da mama, demonstrou que estas possuíam elevadas concentrações de DDT e seus metabolitos no organismo. Esta exposição a pesticidas pode resultar directamente da prática agrícola ou da alimentação. A maior parte das mulheres deste estudo viviam em zonas rurais, sendo estas as que possuíam os níveis mais elevados de organoclorados no sangue (Mathur *et al.*, 2002). Também na Argentina foi realizado um estudo relacionando mulheres com carcinoma da mama e níveis de compostos organoclorados. O resultado obtido foi uma relação positiva entre ambos, ou seja a presença destes compostos cria um microambiente estrogénico que influencia o comportamento do tumor (Muñoz-de-Toro *et al.*, 2006).

Outro estudo, realizado em Long Island, a mulheres com pré-menopausa e danificações no ADN pelos PAHs demonstrou que o risco de sofrerem cancro da mama era 58% superior aos das que não evidenciavam danos no ADN por este químico (Brody *et al.*, 2006).

A presença de parabens nos tumores da mama em humanos, levou à preocupação da utilização deste químico em cosméticos, particularmente em desodorizantes e antitranspirantes, já que pode aumentar o risco da incidência de cancro da mama. Este caso levou a que o programa de Revisão dos Ingredientes de Cosméticos (*Cosmetic Ingredient Review*), com o suporte da Administração de Alimentos e Drogas (*Food and Drug Administration- FDA*) e da Federação dos Consumidores da América avaliasse a segurança dos parabens (Ye *et al.*, 2006).

Outro factor associado à exposição das mulheres ao estrogéneo prende-se com características do seu desenvolvimento reprodutivo. Assim, mulheres que tenham a primeira menstruação cedo, a primeira gravidez tarde e que tenham ainda a menopausa em idade avançada, resultam mais tempo expostas ao estrogéneo endógeno, aumentando o risco de virem a sofrer cancro da mama (Mathur *et al.*, 2002; Mendes, 2002). Actualmente, pensa-se que os tratamentos hormonais, realizados por algumas mulheres, possam também aumentar o risco deste cancro, sendo que estes tratamentos já não são apenas com estrogéneo, mas com combinações de estrogéneo e progesterona, o que poderá estar associado a um risco maior do que no caso de ser apenas o primeiro (Mathur *et al.*, 2002).

O cancro da mama não é exclusivo das mulheres e também pode ter incidência nos homens. Alguns estudos sugerem que a exposição ocupacional a PAHs aumenta três vezes o risco de homens virem a sofrer de cancro da mama antes dos 40 anos (Brody *et al.*, 2006).

A incidência do cancro da mama é cinco vezes superior em mulheres de nações industrializadas em comparação com as que vivem em países em desenvolvimento (Mitrunen *et al.*, 2003; NIEHS, 2007). Estimativas realizadas relativamente ao ano de 2004 colocaram o cancro da mama como o de maior incidência nas mulheres europeias, atingindo valores de 27,4% entre todos os cancros que as mulheres apresentaram (Boyle e Ferlay, 2005). Para 2006, a estimativa foi similar, tendo apenas aumentado, já que alcançou valores de 28,9% dos casos de cancro (Ferlay *et al.*, 2007). Assim, as maiores incidências verificaram-se na zona ocidental da Europa e na América do Norte. Os valores mais baixos e mais elevados na

Europa encontram-se em Espanha e na Suíça (Fernandez *et al.*, 2007), respectivamente (Mendes, 2002). O aumento das incidências, ou os seus elevados valores, podem não reflectir inteiramente um crescimento dos casos de cancro da mama, mas que se podem ficar a dever ao facto de haver maior controlo, como a introdução de técnicas de diagnóstico precoce (Ferlay *et al.*, 2007).

- **Cancro Endometrial**

Os primeiros casos de cancro endometrial remontam aos anos 60, em mulheres sob terapias de substituição de estrogéneo. Outros factores para o aumento do risco deste tipo de cancro são a obesidade, especialmente nas mulheres com menopausa, já que possuem níveis elevados de estrogéneo no organismo (Hardell *et al.*, 2004).

Um estudo realizado na Suécia, sobre a relação entre a concentração de compostos organohalogenados e o risco de cancro endometrial, demonstrou que o índice de massa corporal influencia a concentração destes compostos, sendo estudados os que são bioacumuláveis no corpo humano. Noutros estudos, foram ainda encontradas concentrações elevadas de DDT e seus metabolitos em pacientes com cancro endometrial. Assim, existe um risco associado ao cancro endometrial e às concentrações nos tecidos adiposos destes compostos, sendo que aumenta entre pacientes que realizam terapias hormonais de estrogéneo (Hardell *et al.*, 2004).

Em 2002 existiam 5,8% de casos de cancro endometrial entre todos os outros tipos de cancro na Suécia (Hardell *et al.*, 2004). Existem evidências, ainda que fracas, que o consumo de isoflavonas protege contra a proliferação endometrial, baseadas nos poucos casos deste cancro no Japão e Havai, parecendo que a alimentação rica em soja e alguns legumes diminui o risco deste cancro (IPCS, 2002).

- **Cancro dos Testículos**

O cancro dos testículos é o mais comum entre homens com 20 a 34 anos (IPCS, 2002; Rittle *et al.*, 2002) mas é considerada uma doença rara (Huyghe *et al.*, 2003). A incidência deste tipo de cancro tem aumentado 60-70% durante as últimas quatro décadas em muitos países europeus, na América do Norte e na Austrália (Rittle *et al.*, 2002).

Foi realizado um estudo (Huyghe *et al.*, 2003) com o objectivo de avaliar o aumento da incidência deste cancro a nível mundial, sendo analisados os dados existentes nos Estados

Unidos da América e Canada, na Europa e ainda na Austrália, Nova Zelândia e Japão (Figura 1.2.3).

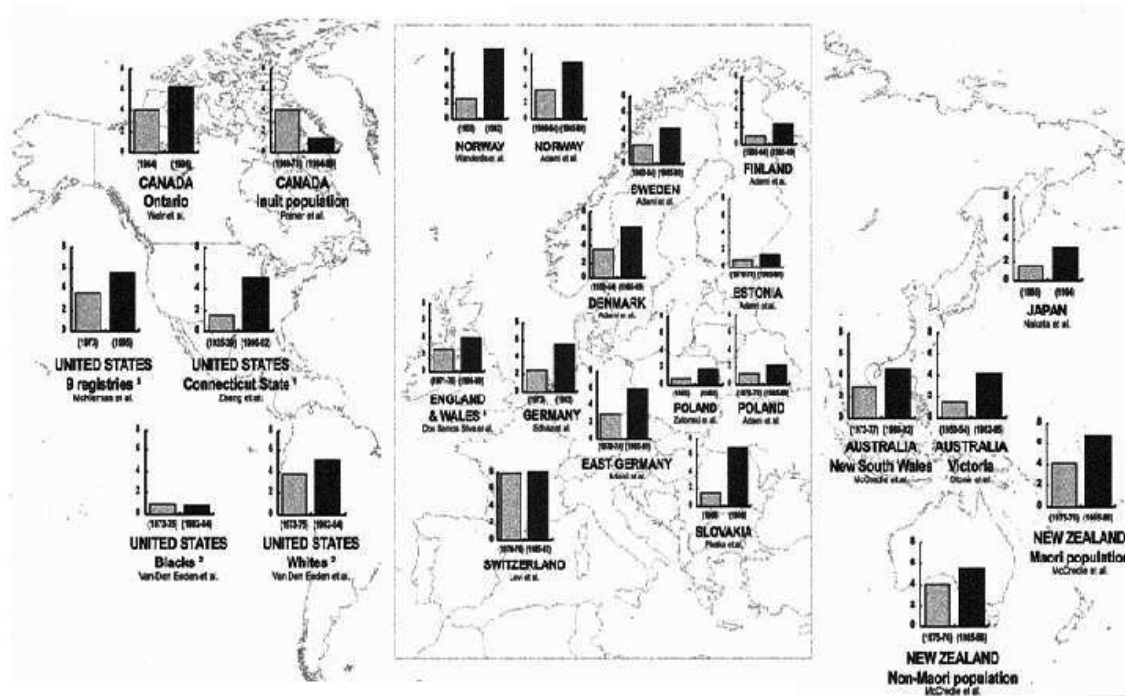


Figura 1.2.3 – Incidência do Cancro dos Testículos (incidência por 100.000 pessoas/ano; Huyghe *et al.*, 2003)

Os registos norte americanos foram divididos em três grupos: um englobando o registo de nove cidades (Havai, Iowa, Novo México, Utah, Atlanta, Detroit, São Francisco, Oakland e Seattle), outro com os estudos realizados no Connecticut, e por último, um grupo que compara a incidência deste tipo de cancro entre brancos e negros. Apesar de não haver uma semelhança cronológica entre os dados obtidos, verificou-se que o primeiro grupo teve um aumento de 3,61 a 5,44 em 100.000 pessoas por ano, entre 1973 e 1995; o segundo mostrou um aumento de 1,46/100.000 pessoas entre 1935 e 1939, para 5,1/100.000 pessoas.ano de 1990 a 1992; no último grupo verificou-se maior incidência deste cancro entre brancos, 95%, do que entre negros, 5%.

Em relação ao Canada, também aqui se estudaram grupos de populações, um apenas com os registos de Ontário e outro com registos do Alasca, Canada e Groenlândia. No entanto, não foi possível caracterizar este último grupo pois observou-se uma baixa incidência de cancro (apenas 21 casos detectados). Na província de Ontário, observou-se um aumento de 60% dos casos de cancro testicular entre 1964 e 1996.

Passando para a Europa, verifica-se uma diferença entre as zonas geográficas Norte, Este e Oeste. Nos países do Norte (Alemanha, Dinamarca, Noruega, Suécia, Polónia, Estónia, Látvia e Lituânia) observou-se um aumento da incidência de 2,3% a 5%. Foi ainda registado uma variação geográfica na incidência de 1980, tendo o maior valor sido verificado na Dinamarca, 7,8/100.000pessoas.ano, e o menor na Lituânia de 0,9/100.000pessoas.ano. Na Europa de Leste confirmou-se também um aumento deste tipo de cancro, mas em diferentes proporções. Variando de 1,5/100.000pessoas.ano, em 1970, para 7/100.000pessoas.ano, em 1990, na Eslováquia e de 5,5 em 1973 para 16/100,000pessoas.ano, em 1989, na Republica Checa.

Na zona ocidental da Europa, o cenário do aumento da incidência deste tipo de cancro cancro mantém-se. Em Inglaterra e no País de Gales há um acréscimo de 0,9/100.000pessoas.ano, entre 1960 e 1969, para 1,7/100.000pessoas.ano entre 1970 e 1975 e ainda de 2,1/100,000pessoas.ano em 1962 para 3,4/100.000pessoas.ano em 1983. Na Suíça registou-se a maior taxa de incidência do mundo, sendo de 8,4/100.000pessoas.ano, a qual não sofreu grandes variações durante os 14 anos seguintes. Observaram-se ainda grandes variações de taxas de incidência neste país entre as áreas rurais e urbanas (6,8/100.000 e 10,7/100.000pessoas.ano, respectivamente). Por último, em França o aumento foi de 3,1/100.000 em 1975 para 4,8/100.000 em 1999, com base em registos de nove regiões.

Por fim, na Austrália as taxas de incidência foram mais baixas do que na Europa, passando de 1,4/100.000pessoas.ano, entre 1950 e 1954, para 4,2/100.000pessoas.ano, entre 1982 e 1985. Os nova zelandeses têm um risco maior de cancro dos testículos do que os australianos, sendo a taxa de incidência destes de 7,9/100.000pessoas.ano contra 3,3/100.000pessoas.ano na Austrália. Notou-se ainda um aumento na população Maori da Nova Zelândia, sendo este o primeiro grupo não branco a ter taxas mais altas do que os brancos, com valores de 6,8/100.000pessoas.ano e de 5,3/100.000pessoas.ano.

No Japão as taxas também foram mais baixas do que na Europa, variando de 1,6/100.000pessoas.ano em 1985 para 3,2/100.000pessoas.ano em 1994 (Huyghe *et al.*, 2003).

Este estudo demonstra o aumento da incidência de cancro dos testículos nos países industrializados, podendo assim ser relacionado com os novos poluentes abordados neste trabalho. Uma das causas apontadas para este aumento é a exposição a hormonas durante a

gestação, especialmente estrogéneo/antiandrogéneo e o síndrome da disfunção testicular, que inclui a criptorquidia (IPCS, 2002; Toppari *et al.*, 2002; Huyghe *et al.*, 2003).

Richiardi *et al.*, (2004), realizaram um estudo para avaliar a incidência do cancro dos testículos em oito países do Norte da Europa. Nos anos 90, foi realizado pelos mesmos autores, um estudo em nove países da zona do Mar Báltico, com o qual verificaram que a incidência deste cancro duplicou nos últimos 15 a 20 anos. Contudo actualmente, prevê-se a atenuação do crescimento da incidência nalguns países.

Na Figura 1.2.4, pode observar-se que as incidências mais elevadas foram encontradas na Dinamarca, Noruega e Suécia. Durante o período de análise, observou-se que o país com o menor aumento da incidência foi a Dinamarca, com 2,6%, quando se registou um valor de 3% para os outros países.

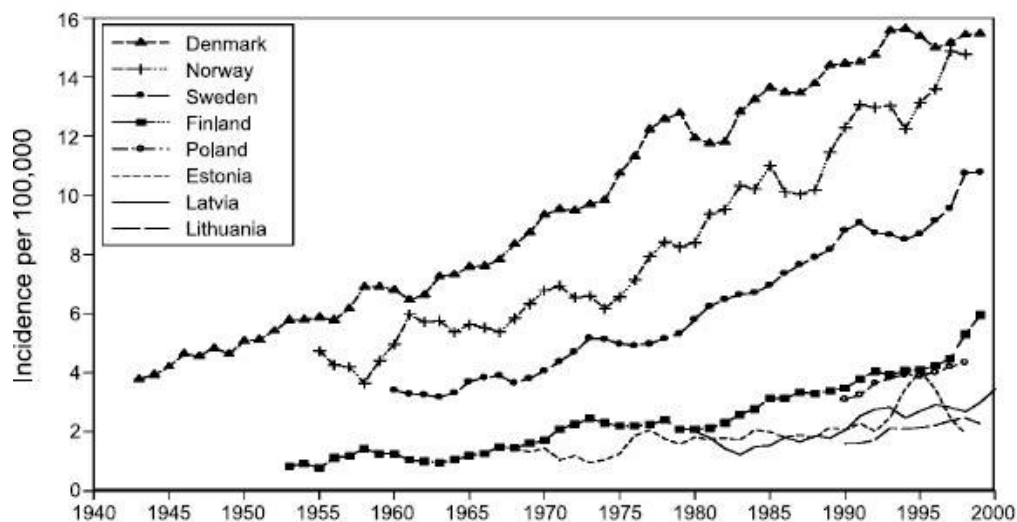


Figura 1.2.4 – Incidência do Cancro dos testículos por ano de diagnóstico e país (Richiardi *et al.*, 2004)

Este estudo conclui assim, que o crescimento da incidência deste cancro no Norte da Europa continua, talvez à excepção da Dinamarca. As causas apontadas prendem-se com exposição a químicos durante a fase fetal, hábitos alimentares e a criptorquidia, ainda que sejam necessários mais estudos (Richiardi *et al.*, 2004).

A este tipo de cancro estão também associadas causas genéticas, bem como a disfunção da síntese das gónadas, pelo que o mau desenvolvimento desta glândula, ou a sua desregulação, pode levar ao aparecimento deste cancro (Toppari *et al.*, 2002).

Num estudo realizado em pacientes com cancro testicular observaram-se concentrações elevadas de PCBs, HCB e clordano (insecticida) nas mães destes. Isto pode explicar-se pelo facto da exposição a estes químicos ser prejudicial durante o desenvolvimento fetal (Hardell *et al.*, 2004).

A criptorquidia e o cancro dos testículos estão interligados, pois defende-se que a primeira aumenta o risco de vir a ter esse tipo de cancro. Um dos primeiros estudos realizados sobre o cancro dos testículos englobou apenas dois países, a Finlândia e a Dinamarca. Existem grandes diferenças entre as incidências, dos sintomas da disfunção testicular, entre estes dois países tão próximos. O cancro dos testículos é um bom exemplo, já que em 1980 a incidência deste cancro na Dinamarca era de 7,8 e na Finlândia de 1,3 por 100.000 pessoas.ano. No entanto, a tendência manteve-se, e em 1996, registava-se uma incidência de 10,4 na Dinamarca e 2,8 na Finlândia. Estas diferenças regionais não têm explicação óbvia, sendo necessários mais estudos, embora se possa relacionar a incidência da criptorquidia e deste cancro nos dois países (Figura 1.2.5) (Virtanen *et al.*, 2005).

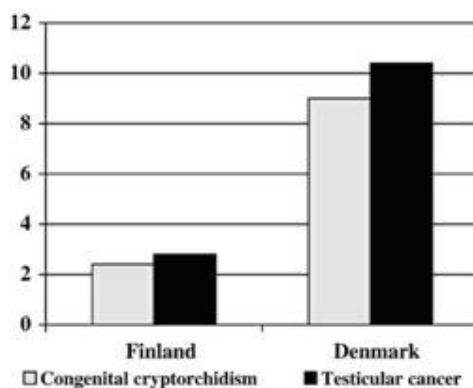


Figura 1.2.5 – Incidência da criptorquidia e do cancro dos testículos na Finlândia e na Dinamarca (Virtanen *et al.*, 2005)

Esta relação permite verificar que duas das anomalias da síndrome testicular são mais elevada na Dinamarca, assim como o risco associado entre uma e outra, já que têm valores aproximados.

- **Cancro da Próstata**

O cancro da próstata é a segunda causa de morte por cancro nos Estados Unidos da América, tendo aumentado 17% nos últimos trinta anos (Mendes, 2002). Estimativas de 2004, colocam este tipo de cancro como o segundo de maior incidência entre os homens europeus, atingindo

15,5% entre os outros tipos de cancro (Boyle e Ferlay, 2005). Para 2006, houve um aumento da incidência já que foi o tipo de cancro mais diagnosticado (Ferlay *et al.*, 2007).

Segundo o IPCS (2002), o cancro da próstata é tanto dependente de hormonas como pode ser modulado por estas. Em animais, o estrogéneo pode levar à carcinogénese da próstata e de há muito se suspeita da sua interferência neste cancro, no ser humano. Tem sido considerada a hipótese da exposição pré-natal a compostos estrogénicos incluindo o bisfenol-A, podendo este ter influência nos recentes aumentos dos casos de cancro da próstata. O facto do bisfenol-A conseguir passar para os alimentos e bebidas através das embalagens, faz com que aproximadamente 90% da população nos Estados Unidos da América contenham níveis detectáveis deste químico (NIEHS, 2007).

Este tipo de cancro é comum nos homens de idade avançada, pelo que o seu rastreio é muito importante. Por volta dos 50 anos, ou até mais tarde, o homem sofre uma redução dos níveis de androgéneo, um pouco como a menopausa nas mulheres. Esta redução não inclui a diminuição do estrogéneo, podendo até haver um aumento do mesmo, o que origina a redução do rácio testosterona/estrogéneo. Esta mudança de quantidades de hormonas pode levar à formação de carcinomas, ainda que benignos, cujo risco aumenta com a idade (Cowin *et al.*, 2007).

Os compostos fenólicos, como o ácido 2,4-diclorofenoxiacético e o 2,4-diclorofenol (DCP), são herbicidas muito utilizados na agricultura como complementos para o crescimento de plantas ou para a fabricação de pesticidas. São conhecidos por terem efeitos tóxicos em animais e humanos, assim como a sua administração em ratos levou ao aumento do tamanho da próstata. Igualmente, foi realizado um estudo para caracterizar as acções sinérgicas do 2,4-D e do DCP com dihidrotestosterona (DHT), *in vitro* e compreender os mecanismos moleculares dos compostos fenólicos através da activação do receptor do androgénio (RA). Foram utilizadas neste estudo duas células de próstata humana cancerígena e posteriormente tratadas com doses diferentes de 2,4-D e DCP, assim como se avaliou o co-tratamento com DHT. Os resultados obtidos foram que o DHT leva ao aumento do crescimento das células de uma forma dependente da dose. No entanto, observou-se também que os compostos fenólicos actuaram tanto aditiva como sinérgicamente com o DHT na proliferação das células cancerígenas. Examinaram-se depois os efeitos destes compostos na transcrição do RA e os resultados indicaram que estes actuam também de maneira aditiva ou sinérgica com o DHT

para activar a transcrição dependente do RA. Concluindo, mostrou-se neste estudo que o 2,4-D e o DCP em combinação com o DH possuem actividade androgénica na proliferação das células e induzem a activação do androgénio (Kim *et al.*, 2005).

Como no caso do cancro da mama, o aumento da incidência do cancro da próstata pode ficar a dever-se também, não só a um crescimento *per si*, mas também à introdução de técnicas de diagnóstico precoce (Ferlay *et al.*, 2007).

- **Cancro da Tiróide**

Como já foi referido, as hormonas da tiróide são muito importantes durante o crescimento e desenvolvimento, especialmente na maturação do cérebro (IPCS, 2002; Mendes, 2002; The Endocrine Society, 2007). É a progenitora que providencia a hormona da tiróide ao feto, pelo que tudo a que a mãe for exposta terá influência na tiróide do descendente (The Endocrine Society, 2007).

Estudos mostram que existem químicos capazes de desregular a actividade da tiróide (IPCS, 2002). O cancro da tiróide é o cancro endócrino mais frequente e também mais tratável, tendo um sucesso de 95% (Médicos de Portugal, 2007). A grande maioria dos cancros da tiróide são formas diferenciadas, havendo, assim, dois tipos: o papilar que representa 70 a 80%, e o folicular que representa 10 a 15% dos cancros desta glândula (SPEDM, 2007).

O cancro da tiróide tem uma incidência três vezes maior nas mulheres do que nos homens, sendo dos países nórdicos o maior número de casos documentados. Como já foi referido, a deficiência da hormona da tiróide no organismo origina problemas de deficiência de iodo, levando a problemas graves. A relação entre estes problemas e lesões na glândula tiroideia com casos de cancro não estão ainda bem fundamentados. No entanto, existem estudos que relacionam essas lesões com o aparecimento do carcinoma. Químicos como o TCDD e o PCB aumentam o metabolismo das hormonas da tiróide, levando ao aparecimento de neoplasmos. Estes podem desenvolver-se em tumores, malignos ou benignos. Assim, ainda que não haja casos ou estudos suficientes para se assegurar uma relação entre ambos, o mesmo se aplica à hipótese contrária, até porque as hormonas da tiróide se encontram relacionadas com a formação de carcinomas, ao seu crescimento e metástase (IPCS, 2002).

1.2.5 Obesidade

A obesidade, definida como gordura corporal em excesso (mais de 25% nos homens e mais de 30% nas mulheres), tem vindo a aumentar dramaticamente nas últimas décadas nos países

industrializados. Mas esta tendência começa a verificar-se também nos países menos desenvolvidos, sendo considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS-WHO) uma das dez doenças mundiais de risco. Este aumento prende-se principalmente com novos hábitos alimentares e com o sedentarismo da população em geral. No entanto, pode também dever-se a factores ambientais, podendo ser originada por desreguladores endócrinos (Newbold *et al*, 2007).

As células de armazenamento de gordura são órgãos endócrinos, pelo que têm um papel importante no desenvolvimento e crescimento do indivíduo. Como já referido, a exposição a xenobióticos durante a fase fetal pode ter efeitos negativos no adulto que daí se vai gerar. Assim, com a obesidade admite-se que ocorra o mesmo (Newbold *et al*, 2007). Estudos indicam que a exposição “prematura” a químicos como TBT ou alguns pesticidas, pode desregular o controlo homeostático sobre a síntese de gordura ou o balanço de energia, resultando então em obesidade. Estudos realizados *in vitro* com células de ratos, indicam que também o bisfenol_A, o nonilfenol e a genistéina podem desregular a fisiologia normal das células pancreáticas, alterando a regulação de glucose e o metabolismo dos lípidos (Newbold *et al*, 2007).

As células pancreáticas podem ser afectadas pelos desreguladores endócrinos sendo estas as que segregam glucagon e insulina, hormonas cuja função é regular os níveis de glucose no sangue, entre outras funções. O glucagon leva à síntese da glucose, quando os seus níveis no sangue são baixos, aumenta a libertação de ácidos gordos desde os tecidos gordos e controla o apetite no sistema nervoso central. A resposta às baixas concentrações de glucose pode ser inibida pelo estrogéneo endógeno e por desreguladores endócrinos. Quando os níveis de glucose são baixos originam-se oscilações nas concentrações de cálcio intracelular. Os desreguladores endócrinos são capazes de suprimir as oscilações de cálcio afectando a segregação de glucagon, o que pode levar a mudanças no metabolismo dos lípidos e reduzir o uso da glucose e gordura armazenadas, contribuindo para a obesidade (NIEHS, 2007).

Newbold *et al* (2007), realizaram um estudo com ratos expostos a DES durante a fase perinatal, revelando níveis mais elevados de glucose e um aumento da percentagem de gordura corporal, em relação aos ratos controlo.

1.3. Desreguladores Endócrinos

Os desreguladores endócrinos são compostos que conseguem interferir com o bom funcionamento do sistema endócrino, tanto animal como humano. Estes compostos podem ser químicos sintéticos, produzidos pelo Homem para diversos fins, ou hormonas naturais, presentes na natureza. Assim, as vias de exposição aos mesmos são muito variadas, podendo materializar-se por contacto directo com o Ambiente (por exemplo, caminhar sobre um campo que foi pulverizado com pesticidas), pela alimentação (como alimentos contaminados com plastificantes da embalagem), pela ocupação laboral (por exemplo, químicos industriais) e ainda, exposição na habitação (como inalação de compostos voláteis, de detergentes) (Shaw e McCully, 2002).

As definições utilizadas para identificar estes compostos são as seguintes:

Um desregulador endócrino é uma substância, ou um composto exógeno, que altera uma ou várias funções do sistema endócrino e tem, conseqüentemente, efeitos adversos sobre a saúde num organismo intacto, sua descendência e/ou (sub)população.

Um desregulador endócrino potencial é uma substância ou um composto exógeno que possui propriedades susceptíveis de conduzir à desregulação do sistema endócrino num organismo intacto, sua descendência e/ou (sub)população (COM, 1999; IPCS, 2002).

Os modos de acção destes compostos ainda não se encontram bem esclarecidos, no entanto existem três formas possíveis de actuarem:

- Imitando, total ou parcialmente, a acção de uma hormona produzida naturalmente, como o estrogéneo ou a testosterona, e originando reacções químicas semelhantes no corpo;
- Bloqueando os receptores hormonais, impedindo assim a acção das hormonas naturais; ou
- Afectando a síntese, o transporte, o metabolismo e a excreção das hormonas, alterando dessa forma as suas concentrações (COM, 1999; NIEHS, 2007).

Segundo o seu modo de acção, os desreguladores endócrinos podem ser classificados da seguinte forma:

- Agonistas: imitam os efeitos das hormonas naturais, ocupando os receptores hormonais;
- Antagonistas: bloqueiam os receptores hormonais naturais;

- Estimuladores: estimulam a formação de receptores hormonais nas células;
- Delectores hormonais: aceleram a degradação e eliminação das hormonas naturais;
- Inibidores enzimáticos: interferem com as enzimas que metabolizam as hormonas naturais;
- Destruidores hormonais: reagem, directa ou indirectamente, com uma hormona natural, modificando a sua estrutura ou influenciando o ritmo da síntese de hormonas naturais (Reys, 2001).

Na Figura 1.3.1 ilustra-se o processo de desregulação endócrina, exemplificando efeitos agonistas e antagonistas:

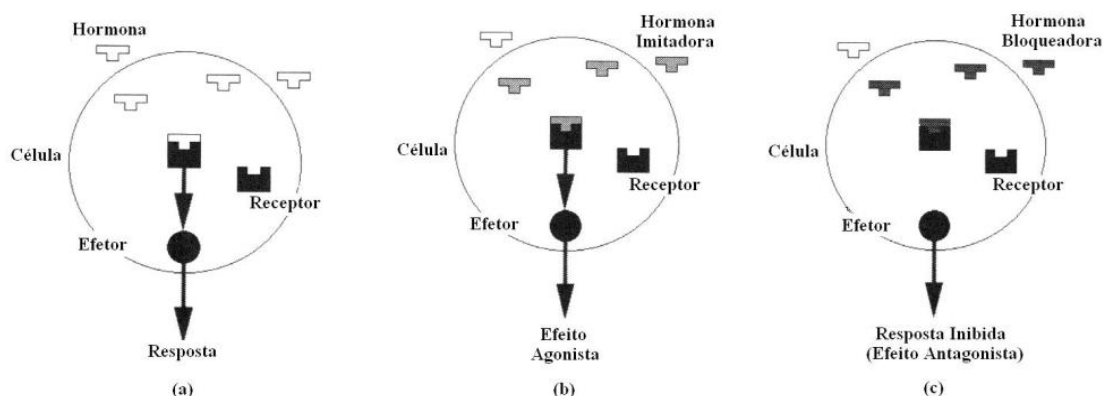


Figura 1.3.1 – Processo de desregulação endócrina: (a) Resposta Natural; (b) Efeito Agonista; (c) Efeito Antagonista (adaptado de Birkett e Lester, 2003)

Como se verifica, um composto pode actuar como um agonista e, ao se ligar com o receptor, imitar a função da hormona original, ou pode actuar como um antagonista e inibir a resposta definida para esse receptor e hormona. No entanto, existem evidências que indicam que estes xenoestrógenos podem actuar como agonistas num tecido e como antagonista, noutro (Mueller, 2003).

Com base nas características dos poluentes, assim como na sua possível forma de actuar e efeitos no ser humano, sintetizou-se a informação constante do Quadro 1.3.1:

Quadro 1.3.1 – Poluentes, modo de actuar e efeitos

Químicos Sintéticos	Modo de Actuar	Possíveis Efeitos
PCBs Dioxinas Ftalatos Bisfenol_A PBDEs	Agonista e inibidor enzimático Agonista/antagonista Antagonistas Agonista/antagonista Agonista/antagonista	Sistema neurológico e reprodutor Sistema neurológico e imunológico Sistema reprodutor Sistema reprodutor; neurológico e imunitário Sistema reprodutor; Tiróide
Fitofarmacêuticos		
<i>Pesticidas</i> DDT e DDE Atrazina Viclozina	Agonistas/antagonistas Agonista/antagonista Antagonista	Sistema imunológico e reprodutor; Cancro Sistema reprodutor e neurológico Sistema reprodutor Sistema reprodutor
Orgânicos		
TBT Nitratos	Agonista e inibidor enzimático Inibidor enzimático	Sistema imunológico, reprodutor e obesidade Sistema nervoso (tiróide)
Metais Pesados		
Pb Hg Cd	Inibidor enzimático Inibidor enzimático Agonista e inibidor enzimático	Sistema reprodutor e neurológico; Cancro Sistema reprodutor e neurológico Sistema reprodutor
Naturais		
<i>Fitoestrogéneo</i> Isoflavonas	Agonista/antagonista	Possível carcinogénico Sistema reprodutor

No quadro anterior pode observar-se que a cada composto pode corresponder mais do que um modo de actuar, assim como algumas semelhanças entre o efeito originado e a forma de agir. Os compostos que se ligam ao receptor do estrogéneo e imitam a sua função, estão relacionados com efeitos de feminização (sistema reprodutor). Este efeito pode ser originado, também, pela ligação ao receptor do androgéneo, bloqueando a acção da testosterona nos tecidos dependentes de androgéneo. Outra via pode consistir na inibição da ligação aos receptores do estrogéneo e da progesterona. Assim, a alteração dos níveis de hormonas sexuais, como por exemplo um excesso de compostos estrogénicos ou a deficiência de androgéneo, leva à feminização do organismo. O contrário também é verificado, havendo assim elevados níveis de androgéneo, levando a efeitos de masculinização do organismo (Waring e Harris, 2005).

Os compostos agonistas também podem afectar o desenvolvimento do sistema neuroendócrino, que é regulado pelas hormonas da tiróide e ainda alterar a síntese ou disponibilidade das hormonas endógenas no organismo (Waring e Harris, 2005).

1.3.1 Sistema Endócrino

O sistema endócrino é composto por um conjunto complexo de glândulas e hormonas, as quais regulam muitas funções do corpo humano, incluindo o crescimento, desenvolvimento e maturação, assim como a forma de funcionamento de alguns órgãos. As glândulas endócrinas produzem e armazenam hormonas, até estas serem libertadas em pequenas quantidades para o fluxo sanguíneo, actuando como mensageiros químicos naturais e viajando para diferentes partes do corpo, com o objectivo de controlar e ajustar muitas das funções vitais (e.hormone, 2007).

Todos os vertebrados, desde os peixes aos mamíferos, têm um sistema endócrino que funciona com o sistema nervoso para: manter estável o estado interno do corpo (nutrição, metabolismo, excreção, balanço de água e sal); reagir a estímulos externos do corpo; regular o crescimento, o desenvolvimento e a reprodução; e produzir, usar e armazenar energia (e.hormone, 2007; NIEHS, 2007; Whaley *et al.*, 2001).

Estes processos podem ter lugar em apenas alguns segundos, como a resposta ao medo, ou levando um pouco mais de tempo, como no caso do crescimento. Estes decorrem do seguinte modo: as glândulas endócrinas recebem sinais das glândulas e células nervosas ao qual libertam hormonas com instruções específicas para as determinadas células. Estas ligam-se depois a receptores proteicos, que após se unirem à zona específica do ADN, que possui a mensagem necessária (Waring e Harris, 2005), iniciam os processos celulares. Quer seja por estimular os genes para a produção de novas proteínas ou alterar a actividade das células proteicas (e.hormone, 2007). A ligação de uma hormona ao seu receptor é de uma afinidade surpreendente (Waring e Harris, 2005), sendo muitas vezes comparada à ligação entre uma chave e uma fechadura. No organismo existem vários tipos de receptores hormonais, sendo os mais estudados os receptores do estrogénio, do androgénio, da tiróide (RT) (Mueller, 2003) e da progesterona (RP) (Scippo *et al.*, 2004). A ligação da maioria dos compostos estrogénicos ao receptor do estrogénio ocorre pela semelhança química que o composto tem com o estradiol (Witorsch, 2002).

Estudos realizados para comparar a afinidade destes receptores com alguns xenoestrogéneos indicam que o DDT e o seu metabolito DDE têm uma grande afinidade com o receptor da progesterona, actuando como antagonistas. O BPA, por exemplo, possui grande afinidade para o receptor do estrogéneo e da progesterona. O conhecimento do tipo de afinidade que um poluente tem com um determinado receptor pode ajudar à sua detecção, tanto em amostras de alimentos, ou de produtos industriais, assim como nos próprios tecidos gordos do ser humano (Scippo *et al.*, 2004).

As gónadas (como os testículos e ovários) são glândulas responsáveis pela secreção de hormonas muito importantes em todas as fases da função reprodutiva ao longo da vida. A diferenciação sexual antes do nascimento, a maturação sexual durante a puberdade e a reprodução na idade adulta dependem destas hormonas. No entanto, o cérebro também é responsável pela reprodução, através da glândula pituitária (Witorsch, 2002).

O ser humano possui cerca de 50 hormonas diferentes, que variam em estrutura, acção e resposta. Mas, as hormonas sexuais, as mais afectadas pelos desreguladores endócrinos, possuem uma estrutura química muito similar à apresentada na Figura 1.3.2. Esta hormona é das mais poderosas do corpo humano e animal, pois basta uma pequena quantidade para gerar as características sexuais femininas e manter os ciclos reprodutivos (e.hormone, 2007), assim como diminuir os níveis de colesterol no sangue e o risco de osteoporose (Witorsch, 2002).

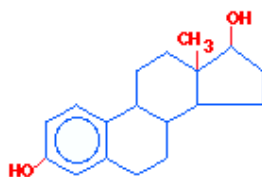


Figura 1.3.2 – Estrutura Química do 17β-Estradiol (e.hormone, 2007)

A testosterona é uma hormona sexual do grupo dos androgéneos. Estes são responsáveis pelo desenvolvimento sexual masculino e a sua síntese tem lugar nos testículos (gónada masculina). No entanto, a testosterona pode ser encontrada também em mulheres, tendo a sua síntese nos ovários ou nas supra-renais, embora nestes casos a sua quantidade seja inferior à encontrada nos organismos masculinos (Médicos de Portugal, 2007; Waring e Harris, 2005).

O estrogéneo é originado nos ovários, pelo que é considerado uma hormona feminina. Este é responsável pelo desenvolvimento sexual feminino e engloba várias hormonas semelhantes,

muitas vezes consideradas a mesma, como por exemplo: estradiol, estiol e estrona. Por seu lado a progesterona, originada no período pós-ovulatório, também é uma hormona esteroide e pela sua função é considerada feminina, ainda que possa ser sintetizada também nos testículos, mas em menores quantidades (Médicos de Portugal, 2007).

As estruturas químicas das hormonas podem ser divididas em três grupos gerais: os esteroides ou hormonas sexuais, como o estrogéneo, o androgénio e a progesterona, as quais derivam do colesterol (Witorsch, 2002) e são lipossolúveis. Actuam entrando no núcleo da célula onde se ligam a um receptor e activam a formação de proteínas; as derivadas de aminoácidos, como a epinefrina, solúveis em água que actuam ligando-se a um receptor fora da célula influenciando a expressão genética; e as hormonas polipéptidas solúveis em água, como a insulina e as hormonas de crescimento, que são armazenadas nas células endócrinas até serem necessárias (e.hormone, 2007).

Estudos recentes indicam que a hormona da tiróide também pode ser desregulada pelos compostos apresentados neste trabalho. A tiróide, como já foi referido, é muito importante no desenvolvimento cerebral do feto pelo que a sua desregulação origina efeitos graves a nível neurológico. A hormona desta glândula pode ser desregulada por mecanismos agonistas ou antagonistas, principalmente gerados por PCB, dioxinas (Porterfield, 2000) e genisteína (Schmutzler *et al.*, 2004). Também no sistema imunológico, esta hormona é importante, já que controlada pelo hipotálamo tem um papel importante no desenvolvimento normal do timo (Mašek, 2003).

Outras hormonas que também podem ser desreguladas por poluentes presentes no Ambiente são os glucocorticoides. Estes compostos, são hormonas esteroides que desempenham funções importantes no sistema imunológico, na manutenção das concentrações de electrólitos e da pressão sanguínea, na função do cérebro, assim como na regulação da proliferação e diferenciação celular. Entre os efeitos que podem ocorrer devido à desregulação desta hormona estão a diabetes tipo 2, a obesidade, doenças cardiovasculares, assim como doenças inflamatórias e autoimunes. A desregulação desta hormona pode ocorrer durante as várias etapas da sua acção, como na regulação do eixo hipotalamo-pituitária-adrenal, na activação do seu receptor ou na degradação e excreção da própria hormona, entre outras. Entre os poluentes capazes de desregular a acção dos glucocorticoides estão o PCB e o TBT, que actuam ao nível do eixo hipotalamo-pituitária-adrenal e na ligação com o receptor (Odermatt *et al.*, 2006).

1.4. Avaliação de Impactes

Como foi referido a exposição aos desreguladores endócrinos dá-se através da poluição antropogénica, a qual se pode verificar através da água, do solo ou do ar, estando todas interligadas. No entanto, a poluição da água será mais abordada, já que as massas de água constituem habitat para inúmeras espécies e porque é um elemento essencial para os ecossistemas.

Ao longo dos anos foram realizados uma série de estudos onde se encontraram evidências de desreguladores endócrinos nas águas residuais descarregadas. Em Itália, na cidade de Po Valley, nos rios, nos sedimentos e ainda na água de consumo encontraram-se sete tipos de medicamentos e promotores de crescimento de gado. Estudos realizados no Reino Unido, revelaram que as hormonas excretadas inactivas podem-se tornar activas após a degradação nas ETARs, sendo assim libertadas para o meio receptor. Nos Estados Unidos da América, um relatório que englobou trinta estados e os seus rios, indicou que em 80 % havia a presença de contaminantes orgânicos das águas residuais, hormonas, insecticidas, PAHS, solventes, entre outros. A monitorização de desreguladores endócrinos realizada nas águas residuais, indica que a maior parte dos compostos encontrados estão biologicamente disponíveis para os organismos aquáticos, uma vez que são hormonalmente activos (Falconer *et al.*, 2006).

A presença de compostos estrogénicos nos efluentes das ETARs pode também ficar a dever-se à excreção humana de compostos como a estrona, o 17β -estradiol, o estriol e o 17α -etinilestradiol. Estes compostos, alguns naturais e como tal produzidos pelo organismo, outros sintéticos e presentes na pílula contraceptiva, são diariamente excretados por mulheres e homens, sendo os últimos em menores quantidades (Belia e Dezotti, 2007). No Quadro 1.4.1 mostra-se uma estimativa da excreção diária de cada composto.

Quadro 1.4.1 – Excreção diária (μg) per capita de estrogéneos

Categoria	estrona	17β -estradiol	estriol	17α -etinilestradiol
Homens	3,9	1,6	1,5	-
Mulheres menstruadas	8	3,5	4,8	-
Mulheres na menopausa	4	2,3	1	-
Mulheres grávidas	600	259	6.000	-
Mulheres	-	-	-	35

(adpatado de Belia e Dezotti, 2007)

Os estrogéneos naturais são excretados pela urina, por mulheres, animais fêmeas e homens. Estes últimos excretam estes compostos na forma de conjugados polares inactivos. No entanto, estudos demonstram que estes compostos são encontrados nos efluentes sob a forma activa, sugerindo então que a sua activação ocorre durante os processos de tratamento (Belia e Dezotti, 2007).

Na Austrália e Nova Zelândia, foram analisadas amostras de águas residuais, tendo os resultados obtidos mostrado que existe uma diminuição na presença de compostos estrogénicos e androgénicos ao longo da linha de tratamento da água residual. Assim, e como seria de esperar, a água residual bruta é a que possui concentrações mais elevadas, havendo uma diminuição após o tratamento primário (44%), seguida do secundário (9,6%). Após o tratamento completo, alcança-se uma última diminuição de 11%. O tratamento biológico com melhores resultados foi o de lamas activadas, onde se conseguiu uma remoção de 92 a 99% destes compostos. Outro tratamento que mostra resultados favoráveis são as lagoas de estabilização, uma vez que estes compostos parecem ser sensíveis à fotodegradação. Ainda assim, os compostos provenientes da indústria mostraram ter uma diminuição menos acentuada ao longo da linha de tratamento (Leusch *et al.*, 2005).

Também na Alemanha, o estudo de uma estação de tratamento, indicou que 90% da actividade estrogénica tinha sido removida durante o tratamento por lamas activadas e apenas 2,8% permanecia nas lamas finais. Assim, concluiu-se que a maioria dos compostos responsáveis pela estrogenicidade, tinham sido removidos durante o tratamento biológico. No entanto, foram detectadas substâncias no efluente, como o bisfenol-A, o octifenol e o nonifenol (Bila e Dezotti, 2007). No Quadro 1.4.2, mostram-se as remoções monitorizadas nessa estação da Alemanha, podendo observar-se que com o tratamento biológico por lamas activadas se alcança bons resultados de remoção.

Quadro 1.4.2 – Remoção de estrogéneos, por filtros biológicos e lamas activadas, numa ETAR

Substância	Carga de Estrogéneos no afluente doméstico (g.dia ⁻¹)	Remoção (%)	
		Tratamento por Filtros Biológicos	Tratamento por Lamas Activadas
Estrona	5,0	67	83
17 β -estradiol	2,5	92	99,9

17 α -etinilestradiol	0,6	64	78
------------------------------	-----	----	----

(adaptado de Bila e Dezotti, 2007)

Como já foi referido anteriormente, foram encontrados efeitos em peixes que habitam zonas de descarga de águas residuais. A maioria destes peixes possuía níveis elevados de vitelogenina e uma elevada prevalência de intersex (Birkett e Lester, 2003). Estes efeitos têm consequências importantes nas espécies destes peixes, uma vez que ao haver mais fêmeas do que machos, o número de descendentes diminui. A diminuição destes pode levar à extinção da espécie, tendo em conta que a sua captura não está equilibrada com o nascimento de novos peixes. A extinção da espécie, por seu lado, pode levar a problemas económicos em algumas regiões, que vivam essencialmente da pesca.

No entanto, também existem peixes que acumulam estes compostos no seu organismo, assim como outros animais, chegando ao ser humano através da alimentação, podendo ter um efeito cumulativo e ainda despoletar consequências graves para a saúde.

Para além, das consequências registadas nos peixes e posteriormente no Homem, a descarga de águas residuais parcialmente tratadas contribui para a poluição das massas de água. Com efeito quando se procede à captação de água para consumo humano, a presença destes compostos deveria implicar um tratamento mais exigente, podendo levar à contaminação do ser humano. Tendo em conta que a água é essencial à sobrevivência e ao bom funcionamento do organismo, poder-se-á ter também aqui um efeito cumulativo no Homem, levando às consequências já referidas.

2.Objectivos

O objectivo desta dissertação centra-se na revisão e discussão do conhecimento existente sobre os efeitos de compostos desreguladores endócrinos no Homem, nomeadamente nos sistemas reprodutivo, neurológico, e imunológico, assim como nos efeitos carcinogénicos e na sua contribuição para a obesidade.

Ainda que os estudos em humanos se limitem à observação estatística de efeitos, as consequências já encontradas na vida animal e em experiências realizadas em laboratório, tanto *in vivo* como *in vitro*, têm sido utilizadas para alertar para as sequelas nos seres humanos.

Assim, com o presente estudo, pretende-se, tanto quanto possível, evidenciar potenciais fenómenos de causa e efeito provocados por compostos desreguladores endócrinos, por forma a contribuir para a sua melhor compreensão e eventual alerta para a adopção de medidas que permitam minimizar os efeitos daqueles compostos.

3. Plano de Trabalho

O desenvolvimento desta dissertação teve como base principal a revisão bibliográfica. Esta abordou temas como a origem, a distribuição e as consequências de compostos desreguladores endócrinos. Relacionaram-se também, as implicações dos destinos finais destes compostos com os potenciais efeitos na saúde humana.

Assim, esta dissertação foi estruturada nas seguintes componentes:

- introdução: onde se apresenta uma revisão bibliográfica, focando temas importantes, como os tipos de químicos com estas propriedades, os efeitos na saúde originados pelos mesmos, o seu possível modo de actuar, assim como um breve esclarecimento sobre o funcionamento do sistema endócrino, terminando com uma avaliação dos impactes gerados.

- casos de estudo: constituído na apresentação de três estudos: um respeitante ao o cancro da mama e os restantes ao cancro dos testículos. O objectivo principal foi mostrar as tendências destas doenças e a sua possível relação com os compostos desreguladores endócrinos. Procura-se ainda, avaliar a situação em Portugal, embora por falta de dados não tenha sido possível alcançar esse objectivo, pelo que apenas se produziu uma simples comparação com a situação na Europa, observando a tendência em dois períodos de tempo.

- discussão: constituída por uma síntese da revisão bibliográfica, uma análise dos casos de estudo, tendo em conta as origens, a evolução do risco e as formas de monitorização existentes para aqueles compostos. Abordou-se a legislação existente, para a protecção das massas de água, tendo em vista a saúde humana e ambiental, relacionando-as com esta via de exposição.

- conclusões: retendo as principais observações da dissertação, analisando a perigosidade e o risco dos compostos desreguladores endócrinos, assim como os seus efeitos e a necessidade de formas de controlo e de normas.

4. Casos de Estudo

Neste capítulo avaliaremos três casos de estudo referentes ao cancro da mama e dos testículos. A incidência destes tipos de cancro difere de país para país, podendo no entanto haver semelhanças entre regiões. Foram escolhidos países europeus e avaliaram-se o crescimento e evolução do número de casos, assim como a influência da idade nestes tipos de cancros.

Ao avaliar estes estudos, podemos ter uma noção da evolução destes cancros e tentar relacioná-los com factores ambientais, como os já apresentados. Uma vez que os países abordados se podem considerar industrializados e que como tal a sua população está exposta a uma maior quantidade de poluentes, pretende-se aproximar as principais causas das incidências de cancro, assim como as suas evoluções.

- Cancro da Mama

“Time trends of breast cancer survival in Europe in relation to incidence and mortality” (Sant *et al.*, 2006)

Este estudo avalia os dados dos registos oncológicos de dez países europeus: Finlândia, Estónia, Suécia, Dinamarca, Inglaterra, Escócia, França, Itália, Espanha e Holanda. Ainda que sejam calculadas taxas de sobrevivência e mortalidade, apenas as de incidência serão tidas em conta, pois são as que caracterizam a evolução deste tipo de cancro na Europa.

Foram considerados os registos entre 1978-1994, sendo feita uma estimativa até 2005. Os dados foram padronizados segundo a idade padrão europeia, obtendo-se a evolução indicada na Figura 4.1.

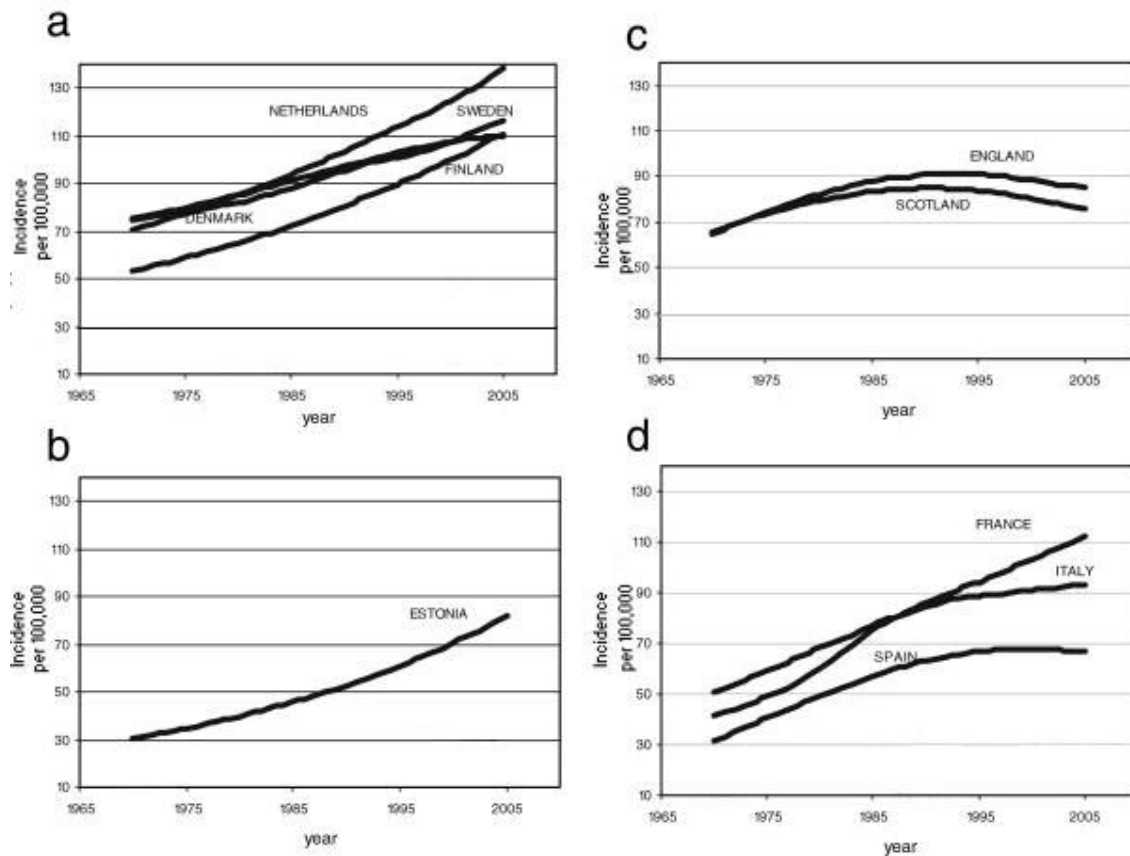


Figura 4.1 – Estimativa da incidência do Cancro da Mama em alguns países europeus (adaptado de Stan *et al.*, 2006)

Como se pode observar na figura anterior, a incidência é mais elevada principalmente nos países nórdicos, Holanda, Suécia, Dinamarca e Finlândia. Foi previsto um crescimento da incidência do cancro da mama de 0,3%/ano na Dinamarca, de 1,7%/ano na Finlândia e Holanda, sendo o mais elevado na Estónia (2,5%/ano). Em geral, regista-se um aumento da incidência a partir dos anos 80, sendo os valores de Inglaterra e da Escócia opostos. A Itália e a Espanha, também não registam valores muito elevados, tendo-se previsto um crescimento superior apenas na França, de 1,3%/ano.

A estimativa da incidência em Inglaterra e na Escócia, como mostra a referida figura, é contrária ao que se tem observado hoje em dia. Isto poderá dever-se ao facto deste estudo ter sido feito apenas como uma média da tendência ao longo do tempo (Sant *et al.*, 2006).

Assim, este estudo pode apenas mostrar um possível cenário da tendência e evolução da incidência do cancro da mama em alguns países europeus, que poderá ser comprovado, ou não, com dados mais recentes (que ainda não se encontram publicados).

- Cancro dos Testículos

“Testicular cancer variations in time and space in Europe” (Huyghe *et al.*, 2007)

Este estudo engloba os dados publicados em artigos científicos, assim como os registos oncológicos dos vários países e do IARC. Foram analisados os dados desde 1960 e em alguns casos desde os anos 70. Também aqui os dados foram padronizados segundo a idade, embora utilizando a idade média mundial. Poder-se-ia esperar uma sub-estimativa da incidência para alguns países onde a idade média é inferior à padrão, mas como só se utilizaram países europeus e a idade destes não difere significativamente, as previsões podem ser aceites.

O resultado da avaliação dos dados recolhidos sintetiza-se na Figura 4.2:

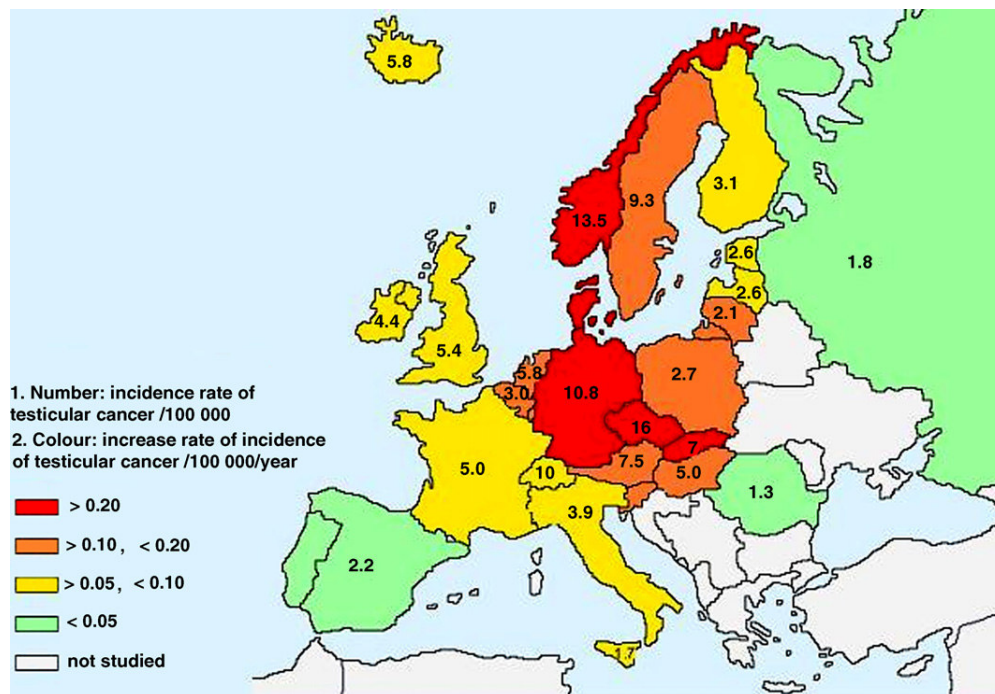


Figura 4.2 – Incidência do cancro dos testículos no continente Europeu (Huyghe *et al.*, 2007)

Os dados observados nos países do norte da Europa, indicam um aumento anual deste tipo de cancro, desde os anos 60, superior a 3% e alcançando muitas vezes 5%, como na Alemanha e

Polónia. Existem também grandes diferenças entre os países desta região, como por exemplo a Dinamarca com uma incidência de 7,8/100.000 e a Lituânia com apenas 0,9/100.000.

Verifica-se também, que o crescimento é influenciado pela idade e assim pelo ano de nascimento. Para homens nascidos após 1920, a taxa de incidência teve um incremento regular, à excepção da Escandinávia, onde houve um decréscimo durante a Segunda Guerra Mundial, e da Suécia, a partir de 1935. O risco de desenvolver este cancro em homens nascidos em 1965 foi estimado em 3,9 na Suécia e 11,4 na Alemanha de Leste.

Na Noruega, entre 1955 e 1992, a incidência cresceu de 2,7/100.000 para 8,5/100.000. Assim, foi observado um crescimento nesta taxa em todos os países do norte europeu, desde 1945. No entanto, recentemente registou-se uma tendência para a diminuição do risco em homens nascidos depois de 1963. Ainda assim, na Islândia houve um crescimento de 1,9/100.000 para 5,8/100.000 entre 1955 e 1997.

Em relação à parte ocidental da Europa, na Inglaterra e no País de Gales a incidência teve um crescimento de 79%, entre 1971 e 1994, em que a maioria ocorreu na faixa etária dos 30-44 anos. Na Escócia, a taxa de incidência duplicou desde 1960 e na Irlanda, teve um crescimento de 1,4/100.000 entre 1980 e 1997.

Em alguns países, como na Holanda, foram registadas diferenças regionais, onde as províncias do norte registaram valores mais elevados que o resto do país. Na Suíça, onde havia uma estabilização da incidência entre os anos setenta e oitenta (8,5/100.000), foi registado um aumento nos anos noventa (10/100.000), principalmente entre a população masculina de 15 e 44 anos. O registo deste país demonstrou também uma diferença entre as zonas urbanas e rurais, onde as primeiras registaram incidências mais elevadas (10,7/100.000 e 6,8/100.000). Outros países desta zona da Europa, com elevados valores, tem-se a Áustria (7,5/100.000 em 1997) e a França onde se registou um aumento da incidência nos últimos vinte anos.

A Europa Central e de Leste, também registou aumentos nas incidências deste tipo de cancro. Assim, a Polónia observou um crescimento de 1,4/100.000 entre 1963 e 1986. Por seu lado o mesmo cenário se observa na Eslováquia, ainda que mais acentuado, aumentando de 1,5/100.000 em 1968 para 7/100.000 em 1990. A República Checa foi o país que registou o

maior crescimento da taxa de incidência, sendo de 14,5/100.000 entre 1973 e 1989, entre a população masculina com idades de 25 a 29 anos. Na Eslovénia, houve um aumento de 4,5/100.000 entre 1955 e 1995, embora pareça que na Croácia e na Sérvia o risco deste cancro é menor, sendo de 2,9/100.000 e 3,0/100.000 em 1995. Esta tendência foi também observada na Roménia, na Rússia e na Bielo-Rússia.

Por fim, nos países da Europa do Sul, têm-se valores divergentes na Itália, sendo os mais elevados no norte. Em Espanha não se registou um elevado crescimento de novos casos deste cancro, pelo que foi classificada pelo IARC como o país com as incidências mais baixas (0,5 para 1,9/100.000). Em Portugal têm-se também registos de pequeno crescimento, sendo de 0,3 em 1983 e de 0,8 em 1997.

As conclusões retiradas deste estudo indicam que nos últimos cinquenta anos se verificou um aumento na maior parte dos países europeus, existindo no entanto estabilizações e até decréscimos, como é o caso da Suécia e da Dinamarca, dois países com elevadas incidências. Observam-se ainda, grandes discrepâncias entre as incidências de países vizinhos, alcançando muitas vezes valores dez vezes superiores, como entre a Dinamarca e a Finlândia ou a Eslováquia e a Rússia. Existe também a incidência da idade, verificando-se maior risco entre homens jovens, com idades compreendidas entre os 15 e os 35 anos e ainda em homens nascidos após a Segunda Guerra Mundial.

Em relação às diferenças existentes entre os valores de países do norte e do sul da Europa, podem ser explicadas pelo não registo deste cancro nos países do sul. Assim, devem-se fazer esforços para regularizar os registos oncológicos para poder avaliar com melhor precisão a situação europeia.

“International patterns and trends in testis cancer incidence” (Purdue *et al.*, 2005)

O cancro dos testículos é o cancro mais comum entre homens de idades compreendidas entre 20 e 34 anos, e representa 1% de todos os cancros masculinos. Existe ainda um pequeno acréscimo na ocorrência deste cancro nas crianças, antes dos 5 anos e em homens com mais de 60 anos. Na maior parte dos países do Ocidente, tem-se observado um aumento da incidência deste cancro no último século, ainda que dados recentes indiquem que estes valores possam estar a estabilizar.

Tendo como base o já referido, foi realizado um estudo onde se avaliou a evolução da incidência deste cancro num período de 25 anos (1972-1997), para 21 populações da América, Ásia, Europa e Oceânia. Também aqui os registos foram normalizados segundo a média padrão de idade mundial.

Os resultados obtidos indicam que os países com as maiores percentagens de crescimento, de 1973-77 a 1993-97, foram: Dinamarca (70,7%; Europa do Norte); França (125,7%; outros países da Europa); Austrália (70,0%; Oceânia); Porto Rico (220,0%; América); Israel (73,7; Ásia). Entre os países africanos, não foi possível calcular esta taxa, uma vez que não existiam registos de 1973-1977, pelo que os países com maiores incidências entre 1993-1997 foram a Argélia, o Mali e o Uganda.

Foi ainda avaliada a tendência do crescimento do número de casos de cancro dos testículos em relação com a idade dos homens diagnosticados. Nas Figuras 4.3 e 4.4 mostram-se os resultados dessa relação, para países europeus.

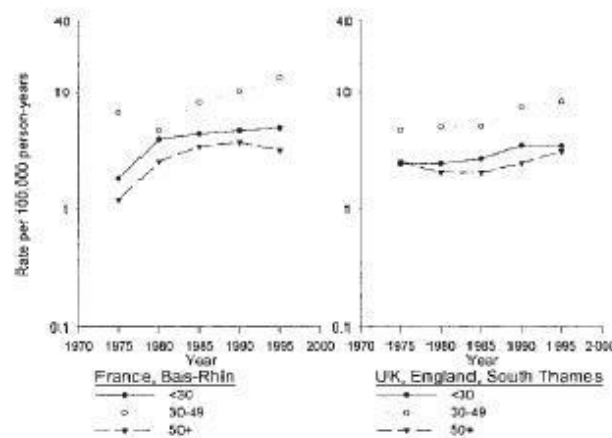


Figura 4.3 – Tendência do cancro dos testículos em grupos etários, na França e Reino Unido (<30 anos, 30-49 e > 50 anos) (Purdue *et al.*, 2005)

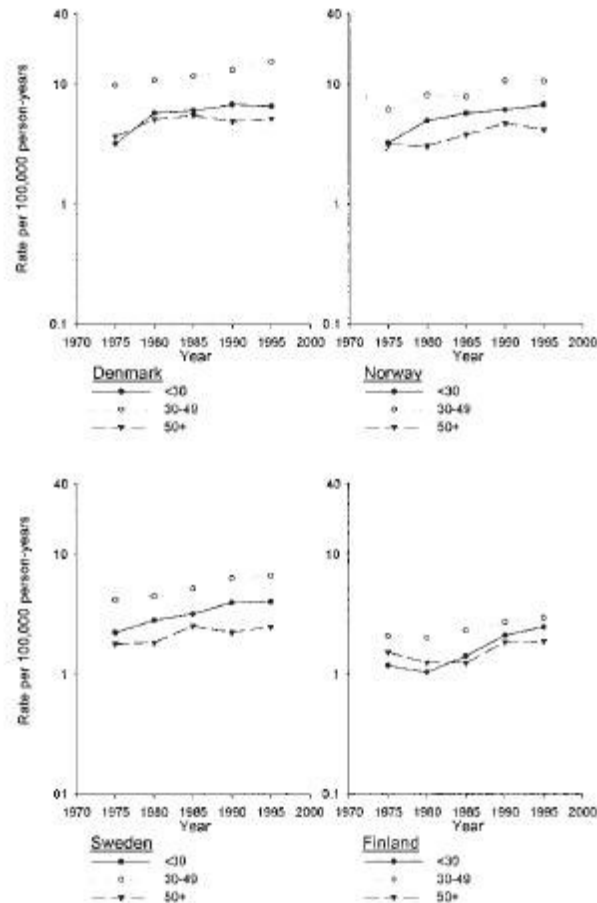


Figura 4.4 – Tendência do cancro dos testículos em grupos etários, nos países nórdicos (<30 anos, 30-49 e > 50 anos) (Purdue *et al.*, 2005)

Este estudo chega a conclusões de que os países com maior número de casos de cancro dos testículos são os europeus, sendo os da Ásia e da África os que têm as menores incidências. Em geral, entre 1993-1997 regista-se um crescimento para todas as populações, sendo no entanto mais elevadas e consistentes nos países com taxas de população superiores. Uma excepção é Porto Rico onde se observa o maior crescimento deste estudo (220.0), mas o que se poderá ficar a dever ao escasso número de registos entre os anos 1973-77. Observa-se ainda, uma maior tendência do cancro dos testículos entre homens jovens, como se pode ver pelas Figuras 4.3 e 4.4. Os maiores valores correspondem aos grupos de 30-49 anos e menos de 30 anos.

- Portugal

Em relação a Portugal, existem apenas dados publicados até 2001, não se considerando representativos os de anos anteriores. Assim, tendo apenas dois espaços temporais de

comparação e dados referentes a Lisboa e Vale do Tejo, pode-se observar um ligeiro crescimento nos casos de cancro da mama. Também no cancro dos testículos se verifica um aumento, ainda que mais ligeiro e quase imperceptível, como se mostra na Figura 4.5, já que se trata de um aumento de 0,01. Pelo contrário, o cancro da próstata é o único em que se verifica um decréscimo.

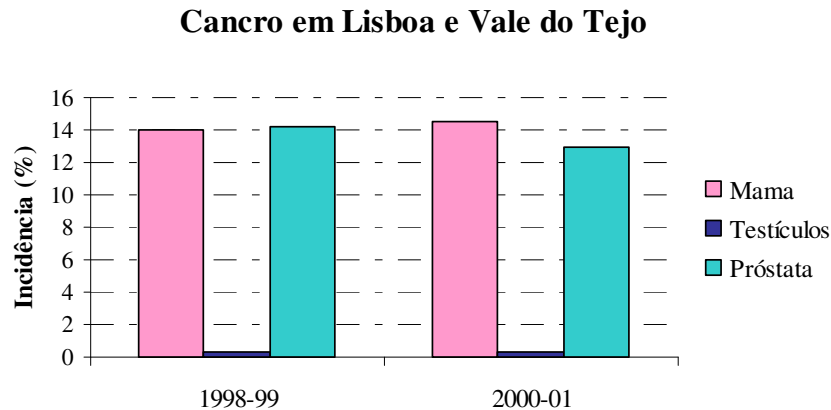


Figura 4.5 – Evolução do Cancro em Lisboa e Vale do Tejo (adaptado de ROR-Sul)

No entanto, devido à escassez de dados disponíveis, não se consegue efectuar uma avaliação correcta da tendência destes cancros, na zona em questão. Tendo em conta o panorama europeu, pode admitir-se uma situação semelhante, ainda que alguns estudos caracterizem Portugal como um dos países de menor incidência.

Comparando valores disponíveis para Portugal e para a União Europeia, para o ano de 1997, constata-se, na Figura 4.6, que o nosso País se encontra abaixo da média europeia. Isto pode ficar-se a dever, não só à baixa incidência do nosso País, mas também ao facto dos países nórdicos terem incidências muito elevadas, contribuindo para o aumento da média na Europa.

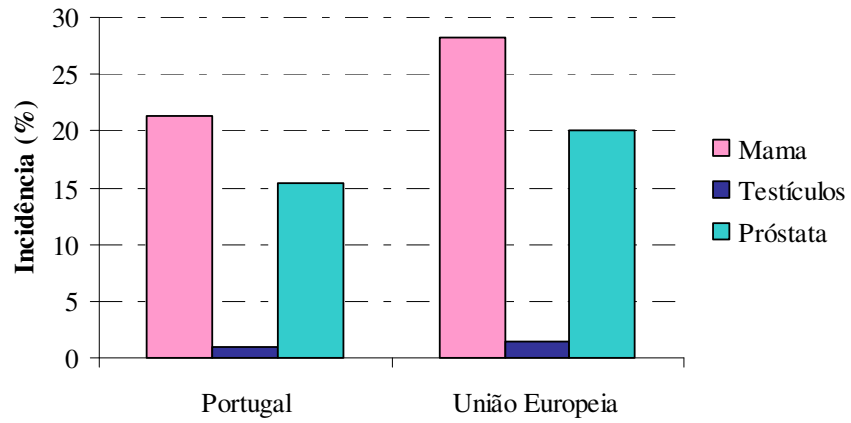


Figura 4.6 – Comparação da Incidência de Cancro em Portugal e na União Europeia (15) em 1997 (adaptado de ECL, 2005)

5. Discussão

A revolução industrial trouxe não só uma melhoria de vida para o ser humano, como também levou à degradação progressiva do ambiente. Os novos hábitos gerados dessa melhoria de vida têm vindo a gerar escassez de muitos recursos, tornando o impacto ambiental do consumismo evidente nos últimos trinta anos do século vinte (Cahill, 2003).

Um dos novos hábitos de consumo é o elevado uso de plásticos e como tal o aumento dos resíduos dos mesmos (Ambiente online, 2007). A produção desses e outros produtos utiliza, na maioria das vezes, químicos sintéticos com propriedades de desregulação endócrina. Estes podem acumular-se no ambiente, levando a impactos importantes em vários ecossistemas.

As substâncias apontadas como desreguladores endócrinos podem ser divididos em dois grupos, as sintéticas, e como tal produzidas pelo Homem, e as naturais, presentes na natureza. Entre as substâncias sintéticas têm-se: químicos utilizados ou fabricados pelas indústrias (químicos sintéticos), fitofarmacêuticos ou pesticidas utilizados, principalmente, na agricultura, metais pesados e compostos orgânicos. No grupo das substâncias naturais tem-se os fitoestrogêneos, presentes em frutas, legumes e verduras.

Como também se verificou, muitos destes compostos são considerados POPs e podem assim, permanecer no ambiente e nos organismos durante largos períodos de tempo. A Convenção de Estocolmo, para os Poluentes Orgânicos Persistentes, muitos deles com acção desreguladora endócrina, elaborou uma série de metas para eliminar e diminuir o uso dos mesmos. No Quadro 5.1 mostram-se essas metas e as propostas da Convenção:

Quadro 5.1 – Metas e acções da Convenção de Estocolmo

Meta	O que faz a Convenção de Estocolmo
1- Eliminar os poluentes orgânicos persistentes, começando com os 12 mais nocivos	<ul style="list-style-type: none"> - estabelece uma meta para eliminar a emissão e utilização dos 12 mais perigosos; - proíbe a produção de PCBs, com prazo até 2025 para eliminar gradualmente a sua utilização e até 2028 para tratar os PCBs recuperados; - limita a produção e utilização de DDT; - exige medidas para reduzir as emissões de dioxinas, furanos, hexaclorobenzeno e PCBs, como subprodutos de combustão ou produção industrial; - restringe as importações e exportações dos 10 contaminantes produzidos

<p>2- Apoiar a transição a outras soluções mais seguras</p>	<p>deliberadamente; havendo apenas transporte para a sua eliminação racional.</p> <ul style="list-style-type: none"> - permite a produção e utilização de DDT para a luta contra o mosquito e outros vectores, conforme as directrizes da OMS, e apenas quando não existem outras soluções mais seguras, eficazes e alcançáveis; assim não se diminuirá a protecção contra o paludismo e a utilização do DDT será mais segura; - estabelece um prazo até 2025 para substituir aparelhos e instrumentos que contenham PCBs na sua composição; deverá ser realizada lentamente por motivos económicos e práticos; - melhorar progressivamente, a capacidade de reduzir emissões dos subprodutos, como dioxinas, furanos, PCBs e hexaclobenzenos; os governos devem elaborar planos de acção e promover as melhores técnicas disponíveis e as melhores práticas ambientais.
<p>3- Propor novos contaminantes orgânicos persistentes para que se tomem medidas</p>	<ul style="list-style-type: none"> - adopta o principio da precaução, para quando houver ameaças de danos graves ou irreversíveis, não se invoque a falta de conhecimento científico como motivo de atrasar medidas eficazes que previnam a degradação ambiental; - estabelece um comité de exame de POPs, que considerará periodicamente novos possíveis produtos para adicionar à lista de POPs; - chama à atenção aos países mais ricos, desde o ponto de vista financeiro e tecnológico, para que ajudem as nações em desenvolvimento e aos países com economias em transição (Europa Central e Oriental e a ex-União Soviética) a encontrar soluções de substituição aceitáveis para os POPs.
<p>4- Eliminar as antigas existências acumuladas e os equipamentos que contenham POPs</p>	<ul style="list-style-type: none"> - chama à atenção aos governos, para que elaborem e ponham em prática estratégias para identificar a existência acumulada de produtos e artigos que contenham POPs; - exige que os resíduos que contenham POPs se conduzam, recolham, transportem e armazenem de maneira ecológica racional; não é permitido a recuperação, reciclagem, regeneração, reutilização directa ou usos

5- Trabalhar em conjunto para um futuro livre de POPs	<p>alternativos dos POPs, e proíbe o transporte inadequado através das fronteiras internacionais;</p> <ul style="list-style-type: none"> - solicita ajuda financeira para assistir os países em desenvolvimento, com o fim de poderem localizar as existências e os lugares de deposição de resíduos e eliminem de forma segura os resíduos com POPs. - prevê aumentar a sensibilização pública para os perigos dos POPs, oferecer informação actualizada sobre os mesmos, iniciar programas educativos, formar especialistas e elaborar e difundir outros químicos e soluções de substituição; - convida os países a apresentar periodicamente relatórios dos esforços para a aplicação do tratado, para que com o tempo se ponham em manifesto os seus problemas e resultados satisfatórios; - convida os governos a encorajar e a empreender novas investigações sobre os POPs, vigiar os efeitos dos 12 mais perigosos na saúde e trocar informações que possa ser úteis para os países de escassos recursos médicos e de protecção ambiental.
---	--

(adaptado de Guia da Convenção de Estocolmo, 2006)

O aumento da preocupação sobre os desreguladores endócrinos, deve-se principalmente a efeitos observados na vida selvagem, os quais se prendem, principalmente, com o sistema reprodutor e imunitário, assim como efeitos no Homem, como aumento de cancro da mama, endometrial, dos testículos e o decréscimo na qualidade do esperma dos homens de alguns países (Whaley *et al.*, 2001). Segundo Solomon (2000), em 1930 realizaram-se estudos com animais de laboratórios, os quais demonstraram propriedades estrogénicas para o bisfenol-A. Em 1950 foram observados efeitos de feminização em galos expostos a DDT. No entanto, Markeley *et al.*, (2003), relativamente ao sec.XX, aponta os anos 60 como o início de aparecimento de evidências dos efeitos destes compostos, pois é quando se observam efeitos na reprodução dos peixes dos Lagos “Great” após a exposição a PCBs. Nos anos 70, observam-se efeitos físicos em populações de gaivotas do Lago Ontário, após a exposição a dioxinas. Por último, nos anos oitenta, são observados efeitos de desregulação endócrina do sistema reprodutor de jacarés do Lago Apopka, após um acidente industrial com TCDD. Os efeitos no ser humano, remontam aos anos 40, quando funcionários de empresas de aplicação de pesticidas por avionetas, apresentaram baixas contagens de espermatozóides, pelo contacto

com o DDT (Mendes, 2002). Nos anos setenta, dá-se uma catástrofe na saúde humana, pois após a administração do fármaco DES na prevenção de abortos durante os anos cinquenta e sessenta, começam a aparecer os primeiros casos de cancros raros nos descendentes das mulheres medicadas (Reys, 2001; IPCS, 2002; Janssen *et al.*, 2007). Apesar de não haver grande consenso sobre quando apareceram os primeiros casos de efeitos dos desreguladores endócrinos, observa-se que estes provocam danos importantes na vida de muitas espécies e do ser humano.

O aumento da incidência do cancro dos testículos e da mama, tem gerado preocupação, tendo sido realizados alguns estudos para avaliação dos mesmos e do seu risco. O cancro dos testículos insere-se num grupo de malformações urogenitais que afectam o homem e é chamada de síndrome da disfunção testicular (capítulo 1.2). Esta disfunção está relacionada com a exposição a desreguladores endócrinos durante a fase fetal e é na maioria dos casos mais visível nos países do norte da Europa (Virtanen *et al.*, 2005). Uma das causas pode ficar a dever-se às propriedades dos químicos persistentes, os quais se acumulam em maior quantidade nas zonas norte e montanhosas do planeta. Aqui, a constituição física dos animais, os quais possuem tecidos adiposos mais grossos e consistentes, leva a que acumulem mais facilmente estes químicos, contaminando depois o ser humano através da alimentação. Também as características do clima, destas zonas, ajudam a que haja uma maior deposição destes químicos e como tal uma maior contaminação pelos mesmos (Convenção de Estocolmo, 2006). Em relação ao cancro da mama, também se regista uma maior incidência nos países do Norte da Europa, como se pode ver no capítulo dos casos de estudo. Mundialmente, os países europeus são os que registam um maior número de casos destes cancros, sendo Espanha e Portugal uma excepção. No entanto, este facto pode ficar a dever-se não tanto por haver menos casos, mas pelos anos de registos disponíveis dos mesmos. Em relação a Portugal, o registo mais antigo data de 1981 e abrange apenas a zona de Vila Nova de Gaia, os demais aparecem a partir de 1988 graças a legislação entretanto imposta (Pinheiro *et al.*, 2003).

Estima-se que tenham sido emitidos para o ambiente, cerca de 100.000 químicos sintéticos, tendo muitos deles actividade de desregulação endócrina. A sua monitorização é recente, pelo que desse ponto de vista existe uma maior protecção do ser humano e do ambiente à exposição destes compostos. No entanto, tendo em conta que muitos destes químicos têm a propriedade de se bioacumularem, neste momento pode não se saber exactamente a que

quantidades de substâncias somos expostos todos os dias. Ainda assim, a idade em que se verifica a exposição é muito importante para prever a consequência. Como foi referido no capítulo 1, a libertação destes químicos desde os anos quarenta, fez com que as primeiras gerações a crescer em contacto com os mesmos fossem as dos anos cinquenta e sessenta (Birkett e Lester, 2003). Assim, ao analisar os casos de estudo, para o cancro da mama, nota-se um aumento a partir dos anos oitenta, o que pode dever-se à exposição a esses químicos por essas gerações, podendo ainda ter afectado os seus descendentes, por exposição *in utero*, ou por propriedades transgeracionais da desregulação. No caso do cancro dos testículos, o aumento ocorre a partir dos anos sessenta, havendo um maior número de casos entre jovens e homens nascidos após a segunda guerra mundial, o que pode ser explicado pelas mesmas razões já indicadas. Como também foi referido no Capítulo 1, este tipo de cancro afecta maioritariamente a faixa etária entre os 30 e os 49 anos, o que também é observado nos casos de estudo referente a este tipo de cancro.

Como se considera que os desreguladores endócrinos podem exercer efeitos a baixas concentrações na água, é necessário que se desenvolvam métodos analíticos aplicáveis a esses níveis. É ainda importante integrar e correlacionar os resultados das análises aos químicos com os efeitos endócrinos, porque existe uma diversidade muito grande destes produtos. Assim, o ideal seria o desenvolvimento de procedimentos analíticos específicos para os químicos. A integração da análise química com os efeitos biológicos, pelo uso da avaliação e identificação de toxicidade (TIE) ou pela análise directa do efeito (EDA) tem sido muito documentada e pode ser resumida nos seguintes tópicos:

- melhoramento da análise química para reduzir os limites de detecção de desreguladores endócrinos. É necessário, melhorar as técnicas de extracção de compostos de amostras ambientais.

- métodos rápidos de análise, baseados em imunoensaios e/ou biossensores, para identificar a presença de estrogéneo, principalmente em estações de tratamento de água e em águas superficiais.

- biomarcadores e ensaios com receptores, para identificar os alvos e os efeitos estrogénicos combinados das diferentes misturas de químicos presentes nas amostras reais do meio ambiente. Os testes, *in vivo* e *in vitro*, para avaliação da actividade estrogénica das amostras, podem conduzir a resultados confusos, pois muitas vezes apenas um estudo não é suficiente para caracterizar completamente essa actividade, sendo necessários mais testes (Barceló e Kettrup, 2004).

- desenvolvimento de novas estratégias de monitorização. Como a utilização de ensaios químicos e biológicos (EDA/TIE) combinados, para identificar as causas dos efeitos observados. Entre os testes biológicos, têm-se os *in vitro*, baseados na genética de leveduras. A combinação de técnicas de espectrometria mássica com biologia molecular, parece ser necessária na investigação relativa aos problemas ambientais (Barceló e Kettrup, 2004).

Os biossensores conseguem fornecer dados sobre efeitos biológicos, como toxicidade ou efeitos desreguladores endócrinos, de uma amostra ou de um simples composto. Pode ainda avaliar a fracção de poluente que se encontra disponível biologicamente, de todo o conteúdo da amostra. Permite, normalmente, a detecção de analitos individuais e não de vários compostos simultaneamente. Podem ser classificados tendo em conta o método de transferência genética (transdução) ou o elemento de reconhecimento biológico. Já foram utilizados na detecção de esteroides, PCBs, dioxinas, fenóis, tensioactivos, PAHs e pesticidas. Um dos biossensores mais utilizados é os imunoensaios, os quais se baseiam na interacção entre anticorpos e antígenos, ocorrendo a reacção na interface líquido-sólido. Outro biossensor também muito utilizado, baseia-se na ligação do composto com os receptores do estrogeneo (Rodriguez-Mozaz *et al.*, 2004).

As substâncias que afectam o sistema endócrino, não o fazem apenas através de mecanismos estrogénicos, ou através do estrogeneo (imitação ou bloqueio), mas, podem agir através do androgéneo, das hormonas da tiróide, da pituitária, do pâncreas, etc. Assim, o comité consultivo para a avaliação e testes de desreguladores endócrinos (EDSTAC- *Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee*) da agência americana do ambiente (USEPA), fez recomendações abrangendo a actividade estrogénica, mas também a avaliação dos efeitos pela actividade (anti)-androgénica e (anti)-tiroide. Também a Directiva Europeia 2000/60/EC, transposta pela lei quadro da Água, inclui estes alvos no Anexo VII “substâncias e preparações, assim como as propriedades de metabolismo das mesmas, que apresentem propriedades carcinogénicas ou de mutação comprovadas, ou propriedades que possam afectar a síntese de esteroides, a tiróide, a reprodução ou outra função endócrina no ambiente aquático” (Harvey e Johnson, 2002). Pelo que a monitorização destes compostos não se pode cingir apenas à actividade estrogénica.

Outra forma de monitorização podem ser os estudos de casos clínicos. Estes podem fornecer evidências de efeitos nos seres humanos, sem a necessidade de extrapolação a partir de estudos em animais. No entanto, a informação epidemiológica tem muitas vezes menos

controlo, em termos de exposição, pelo que não se conseguem identificar relações sem outros estudos de suporte (Harvey e Johnson, 2002).

A OCDE (Organização para a Cooperação e o Desenvolvimento Económico), desenvolveu uma série de testes para avaliar a actividade de desregulação endócrina de compostos suspeitos. Estes são executados seguindo cinco fases, nomeadamente:

- Fase 1: dá prioridade aos químicos sintéticos e naturais, para posterior análise;
- Fase 2: engloba as avaliações por ensaio *in vitro*, incluindo mecanismos de actuação;
- Fase 3: contem ensaios *in vivo* para detecção de actividade endócrina específica;
- Fase 4: ensaios *in vivo* para detecção de efeitos adversos em vários sistemas endócrinos e órgãos;
- Fase 5: abrange ensaios *in vivo* para efeitos adversos, os quais podem ser utilizados para uma avaliação definitiva do risco (Gelbke *et al.*, 2004).

Os ensaios *in vitro* e os *in vivo* (fase 1, 2 e 3), são utilizados para avaliar substâncias que necessitem de estudos a longo prazo (fase 4 e 5), para utilizar a detecção de efeitos adversos como base para a avaliação do risco. No entanto, como já foi referido, os ensaios *in vitro* não podem ser utilizados para substituir os ensaios *in vivo*, pois estes últimos demonstram os mecanismos que originam os efeitos adversos. Assim, para estudos a longo prazo, os ensaios *in vivo* são mais importantes na identificação do perigo e da avaliação do risco (Gelbke *et al.*, 2004).

O desenvolvimento de novos testes para analisar os efeitos dos desreguladores endócrinos, deveria ter em conta os ensaios já existentes e estabelecidos pela OCDE, designadamente: testes de múltiplas doses, envolvendo a examinação de tecidos endócrinos, desde exposição subcutânea a crónica; testes de toxicidade prenatal em ratos e coelhos, os quais mostram distúrbios no desenvolvimento dos órgãos reprodutivos; os testes da OCDE-SIDS, que não incluem apenas a investigação dos tecidos endócrinos, mas também detectam efeitos reprodutivos após exposições relativamente curtas; e os testes de uma ou mais gerações, onde se investigam os efeitos nos tecidos endócrinos e a função reprodutiva, através das gerações (efeitos transgeracionais). Entretanto, foi estabelecida uma autoridade internacional, sob a tutela da OCDE, a EDTA (*Endocrine Disruptor Testing and Assessment Task Force*), para desenvolver novos métodos de teste. Assim, com a ajuda de grupos de cientistas, universidades, industrias e grupos de protecção do ambiente e animais, adaptaram-se os

seguintes testes: ensaios uterotróficos (onde se utilizam ratos femininos) para (anti)estrogeneidade; ensaios Hershberger (onde se utilizam ratos machos castrados) para avaliar a (anti)androgeneidade; e testes reforçados para analisar efeitos (anti)estrogénicos, (anti)androgénicos e (anti)tiróide (neste último teste os ratos são expostos às substâncias durante 28 dias; Gelbke *et al.*, 2004).

A EPA adquiriu um esquema para a avaliação do risco para os desreguladores endócrinos (Figura 5.1). A avaliação da exposição a potenciais desreguladores endócrinos é importante para se desenvolverem ensaios específicos na determinação dos seus efeitos. Após esta determinação consegue-se avaliar o risco e avançar com medidas de gestão do risco. Os tipos de testes utilizados devem abordar a sensibilidade das populações, no contexto de vários perfis de exposição. Comparando o grau de toxicidade com o nível de exposição, o risco do composto pode então ser caracterizado e qualquer gestão necessária pode ser realizada. Por último, o impacte potencial das substâncias sintéticas deve ser considerado no contexto da tensão natural para ajudar a definir o que é um impacte ecológico aceitável. É ainda essencial que novos métodos de análise forneçam dados que possam estar directamente relacionados com o método de monitorização de campo (Hutchinson *et al.*, 2000).

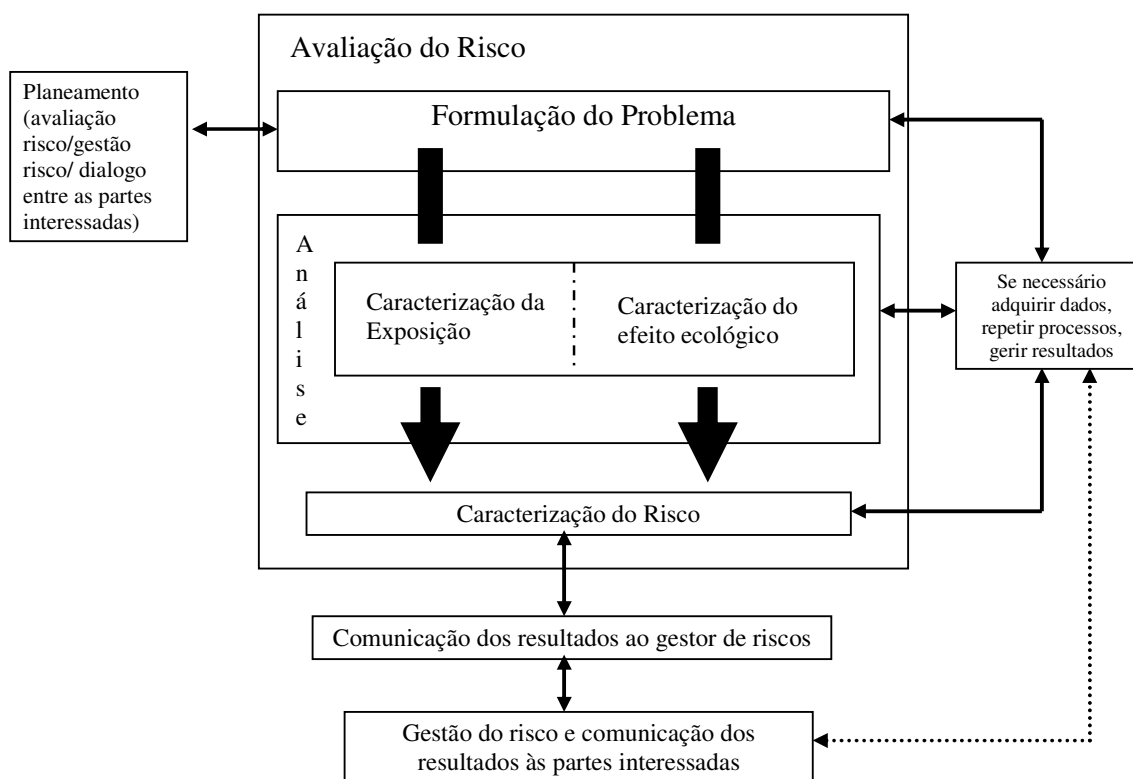


Figura 5.1 – Diagrama da avaliação do risco ecológico segundo a US-EPA (adaptado de Hutchinson *et al.*, 2000)

O comité consultivo para a avaliação e testes de desreguladores endócrinos (EDSTAC), da EPA, propôs um programa de testes e rastreio para estes compostos, o qual se baseia numa série de fases (Figura 5.2). O objectivo da primeira fase é o de fornecer alertas para substâncias endocrinamente activas, sendo que as demais fases fornecem informação sobre os efeitos adversos para a avaliação do risco. É necessário haver um número considerável de ensaios na primeira fase, para desenvolver mecanismos que permitam a diferenciação entre as substâncias que afectam directamente o sistema endócrino e as que afectam primeiro outros órgãos, antes de originar os efeitos secundários no sistema endócrino. Tem sido defendido o esquema apresentado na Figura 5.1, ainda que alguns autores indiquem que deveria haver uma diminuição no número de animais utilizados nos ensaios (Hutchinson *et al.*, 2000).

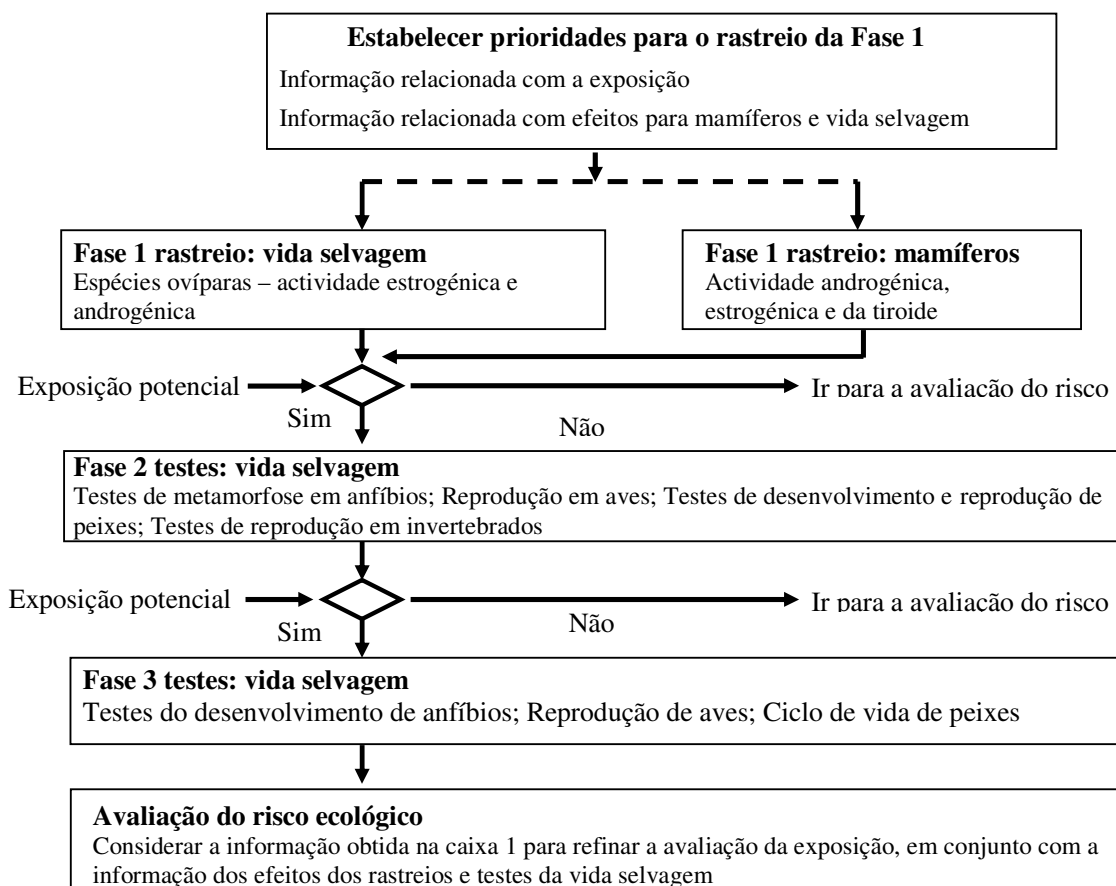


Figura 5.2 – Estratégia para a avaliação do risco dos desreguladores endócrinos (adaptado Hutchinson *et al.*, 2000)

À medida que avançam as fronteiras do conhecimento, e também do desconhecido, a informação científica de hoje pode ser errada amanhã, e a investigação de hoje pode tanto reduzir como aumentar as incertezas científicas. Assim, a espera de mais resultados de novas investigações antes de tomar medidas que reduzam a ameaça de exposição, de animais ou seres humanos, pode levar anos e até conduzir a mais incertezas. Existem alguns exemplos de agravamento da exposição a certos químicos por não terem sido tomadas medidas, antes de haver certezas químicas. Entre eles tem-se o caso do PCB, que apesar de se saber, já nos anos 30, que levava ao envenenamento das pessoas, foi apenas nos anos 70 que foram tomadas, pela Suécia, as primeiras medidas. A União Europeia, lançou uma directiva para a eliminação deste químico, (Directiva 96/58/EC), que começou a ser aplicada em 1996 e tem como meta de eliminação o ano 2010. Outro exemplo, trágico, é o caso do fármaco DES, receitado para prevenir abortos. Já em 1953 se sabia que este fármaco não tinha os efeitos esperados, no entanto a sua administração continuou nos dezassete anos seguintes, até 1970, quando apareceram as primeiras evidências de cancro em seres humanos, expostos *in utero*. No entanto, também existem bons exemplos da aplicação do princípio da precaução, como em França, quando nos anos oitenta se relacionou o colapso das “mantas” de ostras valiosas, com o uso de tinta nos cascos de barcos em que tinha sido aplicado TBT. Isto foi suficiente para se proceder à acção e retirar o composto das tintas utilizadas. Havendo assim, exemplos positivos da aplicação do princípio da precaução, noutros casos, torna-se evidente que é necessário invocar este princípio a tempo, prevenindo sérias ameaças para o ambiente e para o Homem. As acções tomadas necessitam de um nível aceitável de evidência científica, sem ser necessário esperar pela certeza do motivo ou pelo conhecimento dos mecanismos de acção, pois podem levar décadas a serem descobertos (Gee, 2006).

Com a crescente preocupação em torno destes compostos, em 1997 o Parlamento Europeu elaborou um relatório “de iniciativa”, onde convidou a Comissão a adoptar certas medidas para melhorar a legislação em vigor, a apoiar o trabalho de investigação e a colocar mais informação à disposição do público. Como a maioria dos efeitos observados no ser humano não podem ser relacionados directamente com estes químicos, a Comissão adoptou o princípio da precaução, proporcionando assim uma base de actuação sempre que a ciência não puder dar uma resposta clara. A abordagem adoptada na legislação comunitária existente (Anexo I) para os químicos sintéticos com actividade desreguladora endócrina, baseia-se em três etapas. A identificação do risco, onde se procede à identificação da capacidade inerente de uma substância causar efeitos adversos na saúde humana e no ambiente. A avaliação do

risco, a qual se baseia numa avaliação do perigo combinado com uma avaliação da exposição à substância química. Por último, a gestão do risco, na qual se desenvolvem estratégias para este objectivo. Nestas etapas, o suporte científico pode variar significativamente, pelo que sempre que seja necessário se poderá recorrer ao princípio da precaução (COM, 1999).

A Comunidade Europeia, adoptou uma estratégia para estas substâncias, centrada em medidas de curto, médio e longo prazo, as quais quando aplicadas, irão contribuir para garantir maior qualidade para o ambiente e para a saúde das pessoas.

- **Medidas a curto prazo:** recolha de informação. Servirá de suporte para as medidas a médio e a longo prazo. As medidas a curto prazo incluem: o estabelecimento de uma lista de substâncias prioritárias para futura avaliação do seu papel na desregulação endócrina; monitorização de níveis de químicos em alimentos e no ambiente; identificação de grupos vulneráveis da população, os quais necessitam maior atenção; criação de uma rede internacional para facilitar a troca de informação e coordenação da investigação e testes; comunicação com o público e continuação das consultas com os intervenientes.

- **Medidas a médio prazo:** centra-se nas actividades práticas e experimentais necessárias para assegurar que os químicos suspeitos sejam testados de uma forma rápida e precisa. Estas medidas incluem: o desenvolvimento e validação de métodos de teste internacional para avaliar a desregulação endócrina em pessoas e animais; desenvolvimento de uma estratégia europeia de testes para identificar e avaliar os desreguladores endócrinos, que seja consistente com estratégias similares em outros países, como Estados Unidos e Japão; a coordenação e financiamento de investigação internacional para os mecanismos de actuação dos desreguladores endócrinos e para a compreensão de como estes mecanismos podem ter impactes na saúde humana; identificação de químicos alternativos para substituir os que se encontram na lista prioritária, será realizada quando estejam disponíveis os testes apropriados para assegurar a sua segurança.

- **Medidas a longo prazo:** compreendem a actualização, a alteração ou a adaptação dos instrumentos legislativos para a protecção da saúde humana e do ambiente na União Europeia. Estas incluem: aumento de novos testes ou dos já existentes sobre toxicidade para a avaliação do risco e a adaptação dos métodos para avaliar os riscos da saúde humana e da vida selvagem; actualização do modo de classificação dos químicos, da sua embalagem e rotulagem, o seu uso ou venda para assegurar o uso e eliminação seguros dentro da União Europeia; revisão da legislação dos testes, da avaliação, do uso e da eliminação de grupos específicos de substâncias, como os pesticidas, os biocidas e os produtos do consumidor, para

garantir a gestão apropriada dos que possuem propriedades de desregulação endócrina; os desreguladores endócrinos não abrangidos por legislação específica, deverão conformar-se com a Directiva Quadro da Água (2000/60/EC) ou através da adaptação da legislação internacional já existente, como o protocolo da UNECE (*United Nations Economic Commission for Europe*) para os POPS (Comissão Europeia, 2007; COM, 1999).

Para apoiar esta legislação, ou até para ajudar no desenvolvimento de outras, sobre desreguladores endócrinos e seus perigos, a União Europeia possui uma série de projectos de investigação, pertencentes ao quinto programa quadro (FP5 - *Fifth Framework Program*). De seguida são apresentados alguns desses projectos:

Quadro 5.2 – Projectos financiados pela União Europeia

Projecto e duração	Título	Enfoque
Saúde Reprodutiva		
EXPORED (2001-2004)	Resultados relacionados com malformações urogenitais masculinas, com especial referencia para os desreguladores endócrinos	Relação entre exposição fetal aos desreguladores endócrinos e os distúrbios urogenitais nas crianças
GENDISRUPT (2002-2005)	Marcadores genéticos e susceptibilidade aos efeitos dos desreguladores endócrinos durante o desenvolvimento dos testículos dos mamíferos	Identificação de genes representantes da acção dos desreguladores endócrinos, nos diferentes tipos de células dos testículos e a descoberta de genes polimórficos, potencialmente envolvidos na susceptibilidade a estes compostos
Sistema Neuroendócrino		
SENSPESTI (2003-2005)	Construção de tecidos de biossensores, para avaliar os riscos para a saúde dos pesticidas, que afectam o sistema neurotransmissor	Um dos objectivos é centrar-se nos pesticidas neurotóxicos que influenciam a actividade neuroendócrina da epífase, assim como a gametogênese e o comportamento do esperma
Ossos		
BONETOX (2003-2006)	Desenvolvimento ósseo e homeostase – alvos críticos na toxicologia. Investigação para apoiar o desenvolvimento de métodos de teste e para a avaliar o risco das dioxinas e outros	Clarificação dos mecanismos por detrás da osteoporose e das malformações estruturais, por desreguladores endócrinos presentes nos alimentos através de interacções com

	compostos de desreguladores endócrinos presentes na cadeia alimentar, para a saúde humana	elementos da sinalização dos receptores nucleares e outros sistemas de regulação celular
Efeitos dos Desreguladores Endócrinos em vários órgãos		
ENDOMET (2003-2005)	Desregulação do metabolismo dos esteroides endógenos modifica potencialmente o desenvolvimento do sistema neuronal e reprodutivo: efeitos ambientais dos plastificantes	Efeitos dos desreguladores endócrinos (plastificantes) na reprodução ou outro sistema sob o controlo de hormonas esteroides, a baixos níveis ou em misturas presentes na comida e em instrumentos cirúrgicos
EURISKED (2002-2006)	Avaliação do risco de desreguladores endócrinos seleccionados, em vários órgãos	Avaliação do risco do estrogéneo, do androgéneo, da progesterona, dos glucocorticoides, ou das hormonas da tiróide em órgão, após a exposição a desreguladores endócrinos em cosméticos ou pesticidas/fungicidas; Faz parte do projecto CREDO.
Análise do risco de substâncias químicas com propriedades de desregulação do sistema endócrino		
EDEN (2002-2006)	Desreguladores endócrinos: explorar novos parâmetros, exposição, doses baixas e efeitos de misturas nos seres humanos, fauna aquática e animais de laboratório	Efeitos de misturas e baixas doses de desreguladores endócrinos; mecanismos subjacentes à acção dos desreguladores endócrinos; avaliação dos perigos para a fauna e humanos; saúde reprodutiva humana; Faz parte do projecto CREDO.
FIRE (2002-2006)	Avaliação do risco dos retardantes bromados da combustão, como suspeitos de desreguladores endócrinos para a saúde humana e a vida selvagem	A avaliação do risco de retardantes bromados da combustão para a saúde humana e a vida selvagem; Faz parte do projecto CREDO.
Desenvolvimento de métodos de ensaio e de tecnologia		
EASYRING (2003-2005)	Avaliação da susceptibilidade de agentes ambientais, utilizando biomarcadores existentes e novos, assim como métodos rápidos e não invasivos	Desenvolvimento de biomarcadores para desreguladores endócrinos e de sistemas de ensaio <i>in vitro</i> ; investigar os efeitos a curto e longo prazo da exposição a doses baixas de desreguladores endócrinos,

		em vertebrados e pequenos mamíferos.
EDERA (2003-2005)	Desenvolvimento e implementação de sistemas novos <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> para caracterizar os desreguladores endócrinos	Desenvolvimento de sistemas de ensaio <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i> na medição de efeitos de baixas concentrações de desreguladores endócrinos
MENDOS (2003-2005)	Sensores ópticos e biomiméticos para a análise de desreguladores endócrinos ambientais	Desenvolvimento de receptores artificiais baseados em sensores ópticos e de sistemas de avaliação da sua aplicação na análise de desreguladores endócrinos
CASCADE (2004-2009)	Substâncias químicas como contaminantes da cadeia alimentar: rede de excelência em matéria de investigação, avaliação dos riscos e da educação	Rede de Excelência, para estruturar a investigação europeia no domínio da saúde e dos riscos de exposição a produtos químicos através dos alimentos. Concentrado nos resíduos químicos que actuam por via e / ou por interferência com a regulação celular ao nível dos receptores nucleares.
CRESCENDO (2006-2011)	Consórcio para a investigação de receptores nucleares durante o desenvolvimento e o envelhecimento (Projecto Integrado)	Receptores nucleares: sinalização dinâmica, respostas do gene alvo durante o desenvolvimento e o envelhecimento
PIONEER (2005-2008)	Início da puberdade – influência do ambiente e de reguladores endógenos	Objectivos principais: (I) obter dados actualizados da idade do início da puberdade em diferentes regiões da Europa; (II) identificação genética e de factores nutricionais envolvidos no início da puberdade; (III) desenvolver novos modelos de testes experimentais
Avaliação de efeitos e da exposição		
PHIME (2006-2011)	Impactes a longo prazo na saúde humana da exposição a baixas doses ou a misturas de elementos, por estratos susceptíveis da população	Avaliação dos impactes na saúde pelos metais, fontes, banafícios e toxicidade; parâmetros neuroendócrinos serão examinados em relação à exposição ao metilmercúrio; os POPs

		serão avaliados em coortes.
NEWGENERIS (2006-2011)	Riscos da exposição genotóxica de recém-nascidos: desenvolvimento e aplicação de biomarcadores para a exposição alimentar a químicos genotóxicos e imunotóxicos e de biomarcadores para os primeiros efeitos, utilizando os coortes de nascimento mão-filho e biobancos. (Projecto integrado)	Estudo da possibilidade e a que nível a exposição parental a genotóxicos e imunotóxicos pela alimentação leva à indução de eventos moleculares no feto, os quais podem levar ao cancro e à desregulação imunológica durante o crescimento da criança. São abordados alguns mecanismos endócrinos
BIOCOP (2005-2009)	Novas tecnologias de análise para vários contaminantes químicos presentes nos alimentos (Projecto Integrado)	Monitorização de contaminantes químicos (pesticidas, metais pesados, desreguladores endócrinos, etc.) presentes em alimentos, utilizando vários métodos, como os biossensores, baseados na medição do efeito, em vez de medir apenas as concentrações do compostos alvo
CAESAR (2005-2008)	Avaliação assistida por computador das substâncias, de acordo com os regulamentos (orientados especificamente para projectos de investigação)	Produzir modelos de previsão de toxicidade os produtos químicos. Concebido para ser utilizado para fins de regulamentação, especialmente para o REACH

(adaptado de Comissão Europeia, 2007)

O projecto CREDO, referenciado várias vezes no quadro anterior, engloba quatro outros projectos: EDEN, COMPRENDO, EURISKED e FIRE. Juntos representam mais de sessenta laboratórios de investigação na Europa, com um orçamento de mais de 20 milhões de euros. O CREDO é financiado, também, por fundos europeus, do FP5, para programas de análises de qualidade de vida e do ambiente, energia e desenvolvimento sustentável. O projecto COMPRENDO, não mencionado no Quadro 5.2, destina-se à desregulação endócrina em humanos e vida selvagem, com maior foco nos compostos androgénicos/antiandrogénicos (CREDO, 2008).

No entanto, as políticas para este tema deveriam ser feitas em conjunto, ou seja, entre o maior número possível de países, para se poderem alcançar melhores resultados. Senão, pelo contrário, continuaremos a ter situações como as já existentes, em que mesmo que um químico

seja proibido num país, poderão aparecer níveis do mesmo no próprio país ou até em países onde nunca foi utilizado, já que o ambiente não tem fronteiras. São os casos por exemplo, de níveis de DDT, actualmente banido dos Estados Unidos da América, detectados no Minnesota, que ao ser transportado por barcos a partir do México pode alcançar este estado por precipitação; ou os níveis elevados de DDT detectados nos indivíduos que vivem no Pólo Norte, onde este químico nunca foi utilizado (Reys, 2001).

A protecção das massas de água superficiais, subterrâneas, marinhas ou de transição, é muito importante para prever danos na saúde humana, assim como na biodiversidade de muitas espécies selvagens. Em 22 de Dezembro de 2000, foi oficialmente publicada a Directiva Quadro da Água (Directiva 2000/60/CE), a qual representa a iniciativa mais importante da União Europeia em matéria de protecção da água. Os principais objectivos desta directiva são: prevenir a deterioração da água e reforçar o seu estado; promover o uso sustentável da água; reduzir progressivamente as descargas das substâncias prioritárias e perigosas; reduzir progressivamente a poluição da água subterrânea; e contribuir para mitigar os efeitos de inundações e de secas (Mostert, 2003). A lista prioritária desta directiva inclui compostos como alguns pesticidas, benzenos, fenóis, metais pesados (como chumbo, cádmio e mercúrio), etc., muitos destes considerados desreguladores endócrinos. O objectivo principal desta directiva é alcançar, até 2015, um estado de boa qualidade para toda a água nos países da União. Esta directiva resulta de revisões de legislação comunitária relativa água, com o intuito de definir um objectivo unificador de qualidade. Na Figura 5.3, mostram-se as directivas que contribuem para a publicação da Directiva Quadro da Água.

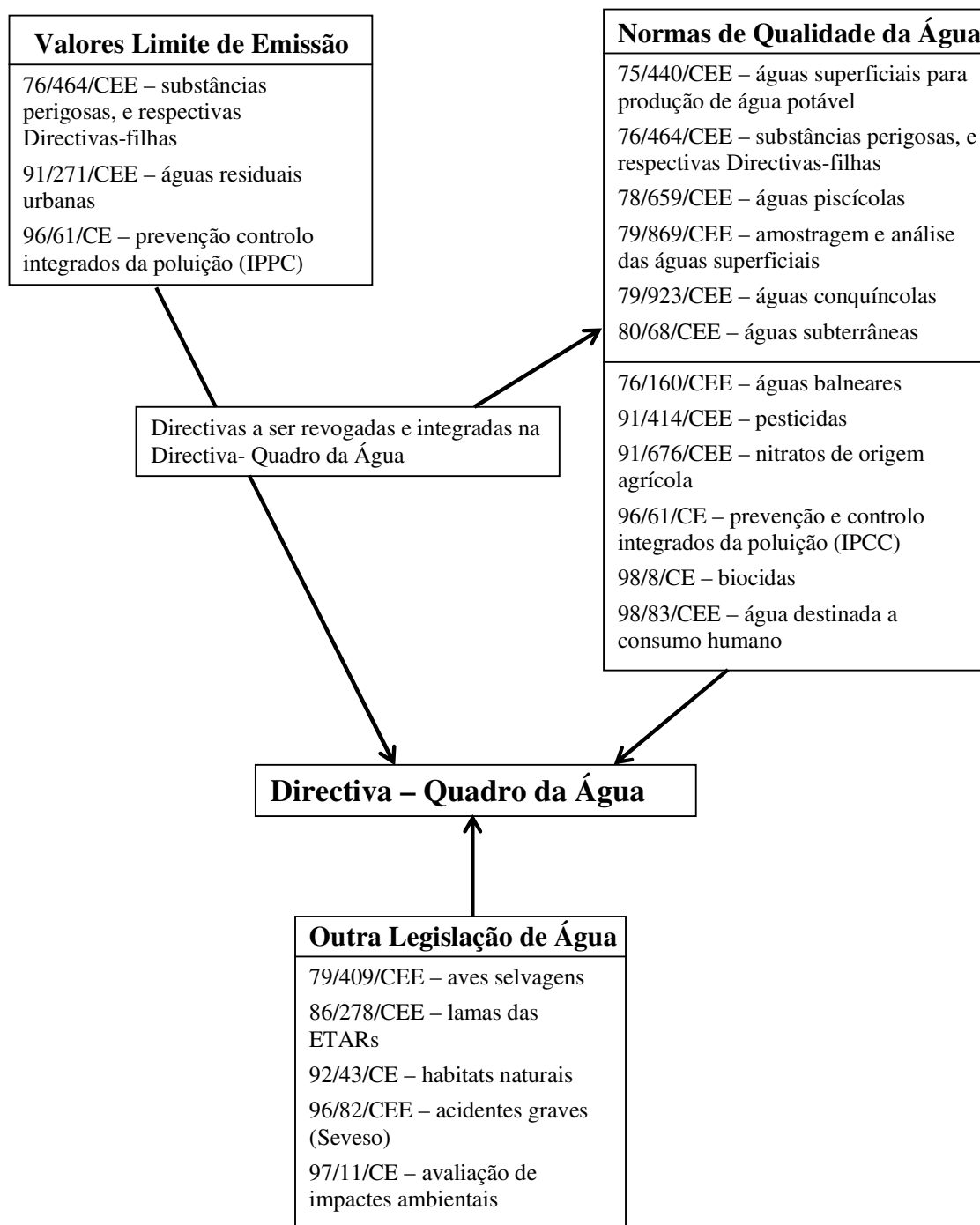


Figura 5.3 – Relação entre a Directiva Quadro da Água e as Directivas da Água (adaptado de Henriques *et al.*, 2000)

No dia 13 de Fevereiro de 2001, foi adoptado pela Comissão Europeia, uma estratégia de futura legislação para compostos químicos. Os seus objectivos principais centram-se em obter um elevado nível de protecção para a saúde humana e para o ambiente, promover o funcionamento eficiente do mercado europeu e a competitividade da indústria química

(Rogers, 2003). Esta estratégia foi transformada em regulamento (EC 1970/2006) o qual tinha como data prevista de aplicação 1 de Junho de 2007, contendo mais quatro importantes objectivos: aumento da transparência; a integração no esforço internacional; promoção da realização de testes sem usar animais; conformidade com as obrigações internacionais da União Europeia para a Organização Mundial do Comércio (WTO). Este regulamento designa-se por de REACH, devido às partes que o constituem (*registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals*).

- **Registo:** todas as substâncias que se encontrem no mercado europeu com um volume de produção, superior a uma tonelada por ano, têm de ser registadas. O registo das mesmas inclui ainda um dossier com a seguinte informação: dados sobre a identidade e as propriedades da substância, incluindo propriedades tóxicas; usos a que se destina e estimativa da exposição humana e ambiental; previsão da quantidade produzida; proposta para classificação e rotulagem da substância; dados sobre segurança; avaliação preliminar do risco, relacionado com a sua utilização; e propostas de medidas de gestão do risco.

- **Avaliação:** quando a produção dos químicos superar o volume de 100 toneladas ou 1.000 toneladas/ano, o produtor ou o importador terá de adicionar informação sobre a avaliação total do risco e uma estratégia de testes adequados. A informação para a avaliação tem de incluir a análise do risco de exposição crónica, para substâncias específicas e será observada por autoridades competentes de regulação da gestão do risco.

- **Autorização:** é baseada numa avaliação do risco, que inclui o ciclo de vida da substância. É uma fase muito delicada, principalmente para substâncias classificadas anteriormente como cancerígenas, mutagénicas e tóxicas (CMR) ou como POPs. As autoridades podem autorizar a substância, podem condicionar a sua autorização, ou banir o uso da mesma.

Esta estratégia permite uma maior transparência, para o regulador, para o utilizador industrial, e para o consumidor (Borgers, 2003).

Com esta legislação pretende-se alcançar, ainda, um maior controlo sobre os desreguladores endócrinos, já que o seu uso pode ser banido (Lyons, 2006). Também aqui se aplicará o princípio da precaução, pois será fundamental para alcançar um nível elevado de protecção da saúde humana e do ambiente (Rogers, 2003).

Em Maio de 2005 (de dia 10 a 12), peritos internacionais e cientistas de diferentes especialidades, reuniram-se em Praga, para um “workshop” sobre químicos que interferem com o sistema hormonal, os conhecidos desreguladores endócrinos. O “workshop” foi realizado com o intuito de discutir as recentes investigações europeias e do risco para a saúde provocado por esses químicos. Os resultados apresentados reforçam a preocupação sobre as consequências a longo prazo da exposição a estes compostos, pelo ser humano e pelos animais selvagens. Em síntese a declaração de Praga para os desreguladores endócrinos mostra as seguintes preocupações:

- a elevada prevalência de desordens reprodutivas em rapazes e jovens europeus e o aumento de cancros, como dos testículos e da mama. Os modos de vida, a alimentação e o ambiente têm papéis importantes nas diferenças regionais destas desregulações e da sua modificação pelo tempo;

- a dificuldade em estabelecer relações entre os efeitos observados, como os anteriores, e a acção dos desreguladores endócrinos;

- a existência de lacunas no conhecimento de efeitos destas substâncias, como a obesidade, as desordens neuronais, o stress, etc.;

- a vida selvagem fornece advertências precoces dos efeitos produzidos pelos desreguladores endócrinos e que ainda não se observaram nos humanos;

- a perigosidade dos efeitos dos desreguladores endócrinos observados em animais de laboratório, indicam que estas substâncias são uma ameaça para a biodiversidade da vida selvagem;

- os europeus estão expostos a baixas doses de vários desreguladores endócrinos, durante fases importantes do seu desenvolvimento, como *in utero*, ou durante a infância;

- os programas de avaliação de segurança actuais, encontram-se mal equipadas para lidar com os desreguladores endócrinos;

- os testes actuais para segurança têm como base os efeitos reprodutivos e não têm em conta os efeitos destas substâncias noutros órgãos, pelo que devem ser desenvolvidos novos testes de avaliação;

- tendo em conta a magnitude do risco potencial associado aos desreguladores endócrinos, as incertezas científicas não devem atrasar a aplicação do principio da precaução e assim reduzir a exposição e os riscos destas substâncias;

- os desafios colocados pelos desreguladores endócrinos requerem um compromisso a longo prazo na monitorização e investigação para caracterizar a exposição humana e animal, assim como os seus mecanismos e interacções (Declaração de Praga, 2005).

6. Conclusões

A exposição aos desreguladores endócrinos pode ocorrer em fases precoces do desenvolvimento humano e animal, já que podem acumular-se nos tecidos gordos, atravessar a placenta ou ainda afectar as crianças através da amamentação. Os efeitos originados podem evidenciar-se apenas anos mais tarde e estão relacionados principalmente com problemas no sistema reprodutor. No entanto, evidências em animais e alguns estudos clínicos indicam também efeitos no sistema neurológico, imunológico, propriedades cancerígenas, assim como contribuição para a obesidade. Os efeitos observados no ambiente e relacionados com a saúde humana, podem afectar a biodiversidade de muitas espécies. Podem ainda, constituir uma via de poluição para o ser humano, já que existe uma bioacumulação destes compostos pela cadeia alimentar, alcançando elevadas concentrações nos patamares mais altos.

Estes efeitos observados, tanto nos animais como no ser humano, indicam a necessidade de monitorização e de legislação adequada para o controlo da produção e da exposição a compostos desreguladores endócrinos. Entre as formas principais de controlo têm-se os testes *in vivo* e *in vitro*, os imunoensaios, os estudos químicos e biológicos e os estudos clínicos. Assim, é necessário desenvolver novos modelos e ferramentas para melhorar a compreensão do modo de actuação destes compostos, avaliar os seus efeitos a longo prazo, durante o desenvolvimento do corpo ou ao longo da vida; desenvolver estratégias de intervenção e prevenção para avaliar e determinar os níveis de exposição e toxicidade, principalmente no caso de mistura de compostos (NIEHS, 2007).

Sempre que não existam evidências científicas suficientes para caracterizar a perigosidade ou o risco de um composto para a saúde humana ou para as espécies selvagens, deve recorrer-se ao princípio da precaução, levando à proibição e eliminação progressiva do mesmo, como ficou referido no relatório de “iniciativa” do Parlamento Europeu para estas substâncias, em 1997.

A realização e o financiamento de uma série de projectos de investigação, lançados pela União Europeia, ajudarão a compreender melhor os modos de actuar destes químicos, assim como originar medidas para prevenção da exposição e respectiva eliminação.

A elaboração da Directiva-Quadro da água, 2000/60/EC, e a sua aplicação em todos os países, por ela abrangidos, levará à protecção das massas de água, tanto por poluição pontual como difusa e como tal à protecção da saúde humana e do ambiente.

Também a nova legislação sobre produtos químicos, a qual obriga ao seu registo, avaliação e futura aprovação por autoridades competentes, trará maior segurança na sua utilização e uma perspectiva melhorada sobre a quantidade e a qualidade desses produtos que existem no mercado europeu.

7. Previsão de trabalho futuro

O tema dos desreguladores endócrinos tem merecido bastante atenção ao longo dos anos, como referido nesta dissertação, principalmente pelos efeitos encontrados na vida animal. Em relação ao Homem, existem apenas relações, ou projecções, de um aumento de certas doenças e da produção de desreguladores endócrinos. Têm-se desenvolvido vários métodos de controlo e monitorização para controlar a exposição aos mesmos, assim como projectos de investigação para conhecer melhor as formas de actuação destes poluentes. No entanto, mais pode ser feito para se conseguir uma maior protecção do Homem e da vida selvagem. De seguida, apresentam-se um conjunto de acções que podem contribuir para alcançar este objectivo no futuro:

- desenvolver métodos de análise da acção dos desreguladores endócrinos, a baixas doses e conseguir estabelecer limites mínimos e máximos de exposição;
- desenvolver ensaios que consigam avaliar os efeitos das exposições *in utero* e prever as suas consequências a longo prazo;
- desenvolver medidas seguras de eliminação destes poluentes, por forma a ter percepção sobre as quantidades já acumuladas;
- realizar um levantamento a nível nacional, das quantidades de desreguladores endócrinos a que a população está exposta, p.ex: pela água, alimentação, e outros;
- melhorar o tratamento de águas residuais e de águas de abastecimento, para limitar ou até eliminar estas substâncias;
- unificar, a nível internacional, os métodos de monitorização e a legislação existente, assim como apelar à participação de todos os países, mesmos os que se encontram em desenvolvimento, para se alcançarem melhorias a todos os níveis. A participação destes últimos torna-se muito importante, principalmente para a protecção dos seus cidadãos, já que podem usufruir do exemplo dos países desenvolvidos e verificar as consequências de uma revolução industrial sem controlo;

Anexo I

Legislação comunitária existente que cobre os aspectos ambientais e relativos à saúde humana das substâncias químicas (utilização na abordagem do problema da desregulação endócrina)

1. Identificação do Perigo:

- Directiva 67/548/CEE, referente à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas respeitantes à classificação, embalagem e rotulagem das substâncias perigosas. Esta Directiva, inclui quinze classes de perigo relacionadas com os efeitos de substâncias e das preparações perigosas. A detecção das propriedades de desregulação endócrina das substâncias novas ou existentes, não é referida nesta directiva e não são especificados critérios de avaliação/métodos de ensaio para estes efeitos. No entanto, na Directiva 92/32/CEE (sétima alteração da Directiva 67/548/CEE), existe referencia às classes de perigo “cancerígenas”, “tóxicas para a reprodução” e “perigosas para o ambiente”, respectivamente. Assim, pode-se proceder aos ensaios e à avaliação dos efeitos de desregulação endócrina de novas substâncias.

2. Avaliação dos Riscos:

- Regulamento (CEE) nº 793/93/ relativo à avaliação e controlo dos riscos ambientais associados às substâncias existentes. Tem como objectivos a protecção do homem (trabalhador, consumidor e homem através do ambiente), no que se refere à exposição a substâncias perigosas através de todas as vias possíveis e de todos os compartimentos ambientais. Este regulamento introduz duas fases fundamentais: o estabelecimento de listas de substâncias prioritárias e a avaliação dos riscos.
- Directiva 91/414/CEE relativa à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado. Prevê a avaliação dos riscos de substâncias activas contidas nos produtos fitofarmacêuticos. Funciona com base em listas prioritárias de substâncias activas que estão sujeita a avaliações dos riscos. Contem requisitos de informação exigidos em

matéria de toxicologia e de exposição, para assegurar um nível elevado de protecção da saúde humana e do ambiente, assim como princípios uniformes de autorizações aos produtos fitofarmacêuticos, que devem ser aplicados pelos Estados Membros. Estas disposições encontram-se nos anexos desta directiva e sempre que as preocupações com a desregulação endócrina sejam confirmadas por dados científicos, estes anexos serão actualizados pela Comissão, após a consulta a peritos no âmbito do Comité Fitossanitário Permanente.

- Directiva 98/8/CE relativa à colocação de produtos biocidas no mercado. Exige a realização da avaliação dos riscos das substâncias activas contidas nestes produtos. Funciona, também, com base em listas prioritárias de substâncias activas que estão sujeitas a avaliações dos riscos.
- Directiva 89/109/CE e suas directivas específicas relativas aos materiais e objectos destinados a entrarem em contacto com géneros alimentícios. Esta directiva com a sua principal directiva específica (Directiva 90/128/CE), relativa aos materiais e objectos de matéria plástica destinados a entrar em contacto com os géneros alimentícios, prevêem a avaliação do risco das substâncias utilizadas no fabrico de objectos em plástico. Torna-se assim, possível a avaliação do risco das substâncias contidas na lista prioritária “desregulação endócrina” e que se encontram presentes nos materiais em contacto com os alimentos abrangidos pela directiva.
- Directiva 76/769/CEE relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à limitação da colocação no mercado e da utilização de algumas substâncias e preparações perigosas. Nos casos em que haja necessidade urgente de avaliação dos riscos, poderá ser necessário realizar uma avaliação dos riscos específicos, tendo em conta a introdução de restrições harmonizadas ao abrigo desta directiva. Assim, um consultor independente apenas examinaria, de acordo com os princípios comunitários, o(s) efeito(s) preocupante(s) e este relatório de avaliação dos riscos, elaborado em estreita cooperação com todas as partes interessadas e analisado por peritos do Comité Científico da

Toxicidade, Ecotoxicidade e Ambiente da Comissão, constituiria a base dos riscos nos termos da directiva.

3. Gestão dos Riscos:

Instrumentos orientados para os produtos:

Medidas de emergência a curto prazo:

- Directiva 92/59/CEE relativa à segurança geral dos produtos. Garante que os produtos de consumo colocados no mercado são seguros, ou seja, que na sua composição, na sua apresentação, ou em conjunto com outros produtos, não coloca em qualquer risco, ou apenas riscos mínimos compatíveis com um elevado nível de protecção da segurança e da saúde das pessoas. Para isso, estabelece requisitos específicos, que os produtores devem cumprir e habilita os Estados-Membros a verificar, vigiar e, se for caso disso, controlar, restringir ou proibir a colocação no mercado de produtos que tenham sido considerados perigosos.

Medidas gerais e específicas a longo prazo:

- Directiva 76/69/CEE relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à limitação da colocação no mercado e da utilização de algumas substâncias e preparações perigosas. Nos casos em que tenha sido concluída uma avaliação dos risco exaustiva nos termos do Regulamento (CEE) n°793/93 e em que exista uma recomendação para que sejam introduzidas restrições à colocação destes produtos no mercado e à sua utilização, a questão será tratada no âmbito desta directiva. A disponibilidade e a probabilidade de risco de produtos de substituição serão tidas em conta.
- Directiva 79/117/CEE relativa à proibição de colocação no mercado e da utilização de produtos fitofarmacêuticos, que contenham as substâncias activas enumeradas no anexo desta Directiva, devido aos seus efeitos nocivos para a saúde humana ou animal, ou à existência de efeitos adversos inaceitáveis para o ambiente.

- Directiva 91/414/CEE relativa à colocação dos produtos fitofarmacêuticos no mercado. Estabelece, que os Estados-Membros apenas podem autorizar produtos fitofarmacêuticos quando for demonstrado que, nas condições previstas, a sua utilização não provocará, nomeadamente, efeitos nocivos para a saúde humana, ou animal, directa ou indirectamente.
- Directivas 86/362/CEE, 86/636/CEE e 90/642/CEE relativas à fixação de teores máximos para os resíduos de pesticidas nos produtos agrícolas e nos géneros alimentícios, com base nos dados toxicológicos, na exposição dos consumidores e nos dados sobre as boas práticas agrícolas estabelecidas para estes pesticidas.
- Directiva 96/22/CE relativa à proibição de utilização de certas substâncias com efeitos hormonais ou tireostáticos e de substâncias β -agonistas. Proíbe a colocação no mercado de certas substâncias como, estilbenos, derivados de estilbenos, seus sais e éteres para administração a animais de todas as espécies. Revoga ainda, todas as medidas existentes nesta área desde 1981.
- Directiva 96/23/CE relativa às medidas de controlo a aplicar a certas substâncias e aos seus resíduos nos animais vivos e respectivos produtos. Inclui, no seu anexo, as substâncias com efeito anabolizante e as substâncias não autorizadas, que devem ser colocadas em planos de vigilância dos resíduos dos Estados-Membros. Estas substâncias deverão ser pesquisadas consoante o tipo de animal e a sua alimentação, incluindo a água de beber e os produtos primários de origem animal.
- Directivas 89/109/CEE e 90/128/CEE relativas aos materiais e objectos destinados a entrarem em contacto com géneros alimentícios. A primeira directiva, uma directiva-quadro, estabelece que os materiais e objectos, no estado de produtos acabados, não devem transferir os seus constituintes para os géneros alimentícios numa quantidade susceptível de representar um perigo para a saúde humana, nem provocar uma alteração inaceitável na composição dos géneros alimentícios. A segunda directiva fixa limites específicos de migração para a

transferência de constituintes dos materiais e objectos de matéria plástica para os géneros alimentícios.

Instrumentos orientados para os processos:

- Directiva 96/61/CE relativa à prevenção e controlo integrados da poluição. É o principal instrumento de prevenção e controlo das emissões de substâncias poluentes, principalmente a partir de grandes instalações industriais. Trata-se de uma directiva-quadro, que remete para a utilização das melhores técnicas disponíveis para o estabelecimento das condições de autorização, e que apresenta uma abordagem integrada das emissões na atmosfera, na água e no solo, do consumo de energia e da desclassificação definitiva das instalações industriais.

Instrumentos orientados para os processos e para os meios:

- Proposta da Directiva-Quadro da Água, que estabelece um quadro de acção comunitário no domínio da política da água. Esta proposta visa eliminar a poluição causada por substâncias perigosas recorrendo a uma abordagem combinada: aplicação de controlos das emissões na origem e estabelecimento de objectivos de qualidade ambiental. Para as substâncias que apresentam um risco elevado para o ambiente aquático, são previstos controlos comunitários uniformes. Esta proposta abrange não só a presença de substâncias artificiais na água, mas também de hormonas sintéticas naturais.

Referências Bibliográficas

- Abelsohn, A., Gibson, B.L., Sanborn, M.D., Weir, E.** – (2002) Identifying and managing adverse environmental health effects: Persistent organic pollutants (*Canadian Medical Associations or its licensors* 166, 12; 1549-1554)
- ABC do ambiente** (2006) – <http://www.abcdoambiente.com/> (consultado em Setembro de 2007)
- Abreu, I.** – (2007) Ambiente e Saúde; <http://www.naturlink.pt> (consultado em Dezembro de 2007)
- Akingbemi, B.** – (2005) Estrogen regulation of testicular function (*Reproductive Biology and Endocrinology* 3, 51; 1-13)
- Alaee, M., Wenning, R.J.** – (2002) The significance of brominated flame retardants in the environment: current understanding, issues and challenges (*Chemosphere* 46; 579,582)
- Alves, C., Flores, L.C., Cerqueira, T.S., Toralles, M.B.P.** – (2007) Exposição ambiental a interferentes endócrinos com actividade estrogénica e sua associação com distúrbios puberais em crianças (*Caderno Saúde Pública, Rio de Janeiro* 23, 5; 1005-1014)
- Ambiente online** – (2007) <http://www.ambienteonline.pt/> (consultado em Dezembro de 2007)
- Aoki, Y.** – (2001) Polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans as endocrine disrupters – What we have learned from Yusho disease (*Environmental Research Section A* 86; 2-11)
- Barceló, D., Kettrup, A.** - (2004) Endocrine disruptors (*Analytical & Bioanalytical Chemistry* 378; 547-548)

- Bathia, R., Shiao, R., Petreas, M., Weintraub, J.M., Farhang, L., Eskenazi, B.** – (2005) Organochloride pesticides and male genital anomalies in the child health and development studies (*Environmental Health Perspectives* 113, 2; 220-224)
- Bay, K., Aklund, C., Skakkebaek, N.E., Andersson, A-M.** – (2006) Testicular dysgenesis syndrome: possible role of endocrine disrupters (*Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* 20, 1; 77-90)
- Bilia, D.M., Dezotti, M.** – (2007) Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências (*Química Nova* 30, 3; 651-666)
- Birkett, J.W., Lester, J.N.** – (2003), *Endocrine Disrupters in Wastewater and Sludge Treatment Processes*, Lewis Publishers, London
- Birnbaum, L.S., Fenton, S.E.** – (2003) Cancer and development exposure to endocrine disruptors (*Environmental Health Perspectives*, 111, 4; 389-394)
- Borgert, C.J., Lakind, J.S., Witorsch, R.J.** – (2003) A critical review of methods for comparing estrogenic activity of endogenous and exogenous chemicals in human milk and infant formula (*Environmental Health Perspectives*, 111, 8; 1020-1036)
- Boyle, P., Ferlay, J.** – (2005) Cancer incidence and mortality in Europe, 2004 (*Annals of Oncology* 16; 481-488)
- Bretveld, R.W., Thomas, C.M.G., Scheepers, P.T.J., Zielhuis, G.A., Roeleveld, N.** – (2006) Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? (*Reproductive Biology and Endocrinology* 4, 30; 1-14)
- Brody, J.G., Moysich, K.B., Humblet, O., Attfield, K.R., Beehler, G.P., Rudel, R.A.** – “What human studies tell us about the connection between breast cancer and chemicals (*Silent Spring Institute*, 2006)
- Cahill, M.** – (2003) The implications of consumerism for the transition to a sustainable society (*Social Policy & Administration* 35, 5; 627-639)

- Cançado, J.E.D., Braga, A., Pereira, L.A.A., Arbex, M.A., Saldiva, P.H.N., Santos, U.P.** – (2006) Repercussões clínicas da exposição à poluição atmosférica (*Jornal Brasileiro de Pneumologia* 32, 1; 5-11)
- Carbone, P., Giordano, F., Nori, F., Mantovani, A., Taruscio, D., Laurias, L., Talamanca, I.F.** – (2007) The possible role of endocrine disrupting chemicals in the aetiology of cryptorchidism and hypospadias: a population-based case-control study in rural Sicily (*International Journal of Andrology* 30; 3-13)
- CERHR** - (2006) Center for the evaluation of risks to human reproduction – “NTP (National Toxicology Program) Brief on the potential human reproductive and developmental effects of Di(2-ethylhexyl)Phthalate (DEHP)”
- Chen, A., Rogan, W.J.** – (2004) Isoflavones in soy infant formula: a review of evidence for endocrine and other activity in infants (*Annual Review of Nutrition* 24; 33-54)
- Clementi, M., Causin, R., Marzocchi, C., Mantovani, A., Tenconi, R.** – (2007) A study of the impact of agricultural pesticide use on the prevalence of birth defects in northeast Italy (*Reproductive Toxicology*, doi:10.1016/j.reprotox.2007.04.066)
- Colborn, T.** – (2004) Neurodevelopment and endocrine disruption (*Environmental Health Perspectives* 112, 9; 944-949)
- Colborn, T.** – (2006) A case of revising the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment (*Environmental Health Perspectives* 114, 1; 10-17)
- COM** – (1999) Estratégia Comunitária em matéria de desreguladores endócrinos
- Comissão Europeia** – (2007) <http://ec.europa.eu> (consultado em Setembro de 2007)
- Confragi** – (2007) <http://www.confagri.pt/> (consultado em Dezembro de 2007)
- Cowin, P.A., Foster, P.M.D., Risbridger, G.P.** – (2007) Endocrine Disruption in the male” em: *Endocrine-disrupting Chemicals: From Basic Research to Clinical Practice*. (Ed. Andrea C. Gore)

- Cutolo, M., Sulli, A., Capellino, S., Villaggio, B., Montagna, P., Serio, B., Straub, R.H.**
– (2004) Sex hormones influence on the immune system: Basic and clinical aspects in autoimmunity (*Lupus* 13; 635-638)
- CREDO** – (2008) <http://www.credocluster.info> (consultado em Janeiro de 2008)
- CSTEE** – (1999) Opinion on human and wildlife health effects of disrupting chemicals, with emphasis on wildlife and ecotoxicology test methods
- ECL – European Cancer League** (2005) Cancer in Europe, Facts and figures
- Diniz, M.E.C.S.** – (2005) Contribution to the study of endocrine disruptor compounds in cyprinids: assessment of effects on fish exposed to final effluent of urban wastewater treatment (Lisboa, 2005)
- Domingo, J.L.** – (2004) Human exposure to polybrominated diphenyl ethers through the diet (*Journal of Chromatography A* 1054; 321-326)
- e.hormone** – (2007) <http://e.hormone.tulane.edu/ehormone.html> (consultado em Março de 2007)
- Falconer, I.R., Chapman, H.F., Moore, M.R., Ranmuthugala, G.** – (2006) Endocrine-Disrupting compounds: a review of their challenge to sustainable and safe water supply and water reuse (*Environmental Toxicology* 21; 181-191)
- Fan, W., Yanase, T., Morinaga, H., Gondo, S., Okabe, T., Nomura, M., Hayes, T.B., Takayanagi, R., Nawata, H.** – (2007) Herbicide atrazine activates SF-1 by direct affinity and concomitant co-activators recruitments to induce aromatase expression via promoter II (*Biochemical and Biophysical Research Communications* 335; 1012-1018)
- Ferlay, J., Autier, P., Boniol, M., Heanue, M., Colombet, M., Boyle, P.** – (2007) “Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006” (*Annals of Oncology*; doi: 10.1093/annonc/mdl498)

- Fernandez, M.F., Molina-Molina, J.M., Lopez-Espinosa, M-J., Freire, C., Campoy, C., Ibarluzea, J., Torne, P., Pedraza, V., Olea, N.** – (2007) Biomonitoring of environmental estrogens in human tissues (*International Journal of Hygiene and Environmental Health* 210; 429-432)
- Fisher, J.S** – (2004) Are all EDC effects mediated via steroid hormone receptors? (*Toxicology* 205; 33-41)
- Fortes, É.M., Malerba, M.I., Luchini, P.D., Sugawara, E.K., Sumodjo, L., Neto, L.M.R., Verreschi, I.T.N.** – (2007) Ingestão excessiva de fitoestrogénios e telarca precoce: Relato de caso com possível correlação (*Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolia* 51, 3; 500-503)
- Fulgêncio, C.** – (2007) Poluentes Orgânicos Persistentes – os 12 mais indesejáveis <http://www.naturlink.pt> (consultado em Dezembro de 2007)
- Gandolfi, F., Pocar, P., Brevini, T.A.L., Fischer, B.** – (2002) Impact of endocrine disrupters on ovarian function and embryonic development (*Domestic Animal Endocrinology* 23; 189-201)
- Gee, D.** - (2006) Late lessons from early warnings: toward realism and precaution with endocrine-disrupting substances (*Environmental Health Perspectives* 114, 1; 152-160)
- Gelbke, H.P., Kayser, M., Poole, A.** - (2004) OECD test strategies and methods for endocrine disruptors (*Toxicology* 205; 17-25)
- Guerrero-Bosagna, C., Valladares, L.** – (2007) Endocrine disruptors, epigenetically induced changes, and transgenerational transmission of characters and epigenetic states em: *Endocrine-disrupting Chemicals: From Basic Research to Clinical Practice*. (Ed. Andrea C. Gore)
- Guillette, L.J.Jr** – (2005) Is nitrate an ecologically relevant endocrine disruptor in vertebrates? (*Integrative and Comparative Biology* 45; 19-27)

- Guillette, L.J.Jr.** – (2006) Endocrine disrupting contaminants – Beyond the dogma (*Environmental Health Perspectives* 114, 1; 9-12)
- Hagger, J.A., Depledge, M.H., Oehlmann, J., Jobling, S., Galloway, T.S.** – (2006) Is there a casual association between genotoxic and the imposex effect? (*Environmental Health Perspectives* 114, 1; 20-26)
- de Hann, F.A.M.** – (1993), Soil quality in relation to soil pollution, em: *Environmental change and human health*, Ciba Foundation, England, 104-123
- Hardell, L., Bavel, B.V., Lindström, G., Björnfoth, H., Orgum, P., CARLBERG, M. SÖRENSEN, C.S., GRAFLUND, M.** – (2004) Adipose tissue concentrations of ρ,ρ' – DDE and the risk for endometrial cancer (*Gynecologic Oncology* 95; 706-711)
- Harvey, P.W., Johnson, I.** - (2002) Approaches to the assessment of toxicity data with endpoints related to endocrine disruption (*Journal of Applied Toxicology* 22; 241-247)
- Henriques, A.G., West, A.C., PIO, S.** – 2000 Directiva Quadro da Água, um instrumento integrador da política da água da união europeia (*Congresso da Água 2000*)
- Hsu, P-C., Pan, M-H., LI, L-A., CHen, C-J., TsaI, S-S., Gue, Y.L.** – (2007) Exposure *in utero* to 2,2',3,3',4,6'-hexaclarobiphenyl (PCB 132) impairs sperm function and alters testicular apoptosis-related gene expression in rat offspring (*Toxicology and Applied Pharmacology* 221; 68-75)
- Hutchinson, H.T., Brown, R., Brugger, K.E., Campbell, P.M., Holt, M., Länge, R., Mccahon, P., Tattersfield, L.J., van Egmond, R.** - (2000) Ecological risk assessment of endocrine disruptors (*Environmental Health Perspectives* 108, 11; 1007-1014)
- Huyghe, E., Matsuda, T., Thonneau, P.** – (2003) Increase incidence of testicular cancer worldwide; A review (*The Journal of Urology* 170; 5-11)

- Huyghe E., Plante, P., Thonneau, F.P.** - (2007) Testicular cancer variations in time and space in Europe (*European Urology* 51; 621-628)
- Inadera, H.** - (2006) The immune system as a target for environmental chemicals: xenoestrogens and other compounds (*Toxicology Letters* 164; 191-206)
- IPCS** Global Assessment of EDCs (2002)
- Janssen, S., Fujimoto, V.Y., Giudice, L.C.** - (2007) Endocrine disruption and reproductive outcomes in Women em: *Endocrine-disrupting Chemicals: From Basic Research to Clinical Practice.* (Ed. Andrea C. Gore)
- Jefferson, W.N., Padilla-Banks, Newbold. R.R.** - (2007) Disruption of the developing female reproductive system by phytoestrogens: Genistein as an example (*Molecular Nutrition and Food Research*, 51; 832-844)
- Kim, H-J., Park, Y.I., Dong, M-S.** - (2005) Effects of 2, 4-D and DCP on the DHT-Induced androgenic action in human prostate cancer cells (*Toxicological Sciences* 88, 1; 52-59)
- Kuwada, M., Kawashima, R., Nakamura, K., Kojima, H., Hasumi, H., Maki, J.** - (2006) Study of neonatal exposure to androgenic endocrine disruptors, testosterone and dihydrotestosterone by normal-phase HPLC (*Biomedical Chromatography* 20; 1237-1241)
- Lagadic, L., Coutellec, M-A., Caquet, T.** - (2007) Endocrine disruption in aquatic pulmonate molluscs: few evidences, many challenges (*Ecotoxicology*, 16; 45-59)
- Lange, I.G., Daxenberger, A., Schiffer, B., Witters, H., Ibarreta, D., Meyer, H.H.D.** - (2002) Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment (*Analytica Chimica Acta* 473; 27-37)
- Leusch, F.D.L., Chapman, H.F., van den Heuvel, M.R., Tan, B.L.L., Gooneratne, S.R., Tremblay, L.A.** - (2005) Bioassay-derived androgenic and estrogenic activity in

- municipal sewage in Australia and New Zealand (*Ecotoxicology and Environmental Safety* 65; 403-411)
- Lima, A.P., Silva, A.A.M.R., Moura, M.D.** – (2006) Concentrações de FSH, LH, estradiol, progesterona e histamina no soro, no fluido peritoneal e no fluido folicular de mulheres com e sem endometriose (*Revista Brasileira Ginecológica Obstetrícia* 28, 11; 643-651)
- Lundqvist, C., Zuurbier, M., Leijts, M., Johansson, C., Ceccatelli, S., Saunders, M., Schoeters, G., Tusscher, G.T., Koppe, J.G.** – (2006) The effects of PCBs and dioxins on child health (*Acta Paediatrica* 95, 453; 55-64)
- Lyons, G.** - (2006) Viewpoint: Policy requirements for protecting wildlife from endocrine disruptors (*Environmental Health Perspectives* 114, 1; 142-146)
- Markey, C.M., Rubin, B.S., Soto, A.M., Sonnenschein, C.** – (2003) Endocrine disruptors: from Wingspread to environmental developmental biology (*Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 83; 235-244)
- Mašek, K., Slánský, J., Petrovický, P., Hadden, J.W.** – (2003) Neuroendocrine immune interactions in health and disease (*International Immunopharmacology*, 3; 1235-1246)
- Massart, F., Harrell, J.C., Frederico, G., Saggese, G.** – (2005) Human breast milk and xenoestrogen exposure: A possible impact on human health (*Journal of Perinatology* 25; 282-288)
- Mathur, V., Bhatnagar, P., Sharma, R.G., Acharya, V., Sexana, R.** – (2002) Breast cancer incidence and exposure to pesticides among women originating from Jaipur (*Environmental International* 28; 331-336)
- Médicos de Portugal** – (2007) <http://www.medicosdeportugal.iol.pt/> (consultado em Novembro de 2007)

- Mendes, B., Oliveira, J.F.S.** – (2004) “*Qualidade da água para consumo humano*” Lidel, Lisboa
- Mendes, J.J.A** – (2002) The endocrine disrupters: a major medical challenge (*Food and Chemical Toxicology* 40; 781-788)
- Mitrunen, K., Hirvonen, A.** – (2003) Molecular epidemiology of sporadic breast cancer, the role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism (*Mutation Research* 544; 9-41)
- Mostert, E.** - (2004) The European Water Framework Directive and water management research (*Physics and Chemistry of the Earth* 28; 523-527)
- Mueller, S.O.** – (2003) Xenoestrogens: mechanism of action and detection methods (*Analytical & Bioanalytical Chemistry* 378; 582-587)
- Multigner, L., Oliva, A.** – (2002) Secular variations in sperm quality: fact or science fiction? (*Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro* 18, 2; 403-412)
- Muñoz-de-Toro, M., Durando, M., Beldoménico, P.M., Beldoménico, H.R., Kass, L., García, S.R., Luque, E.H.** – (2006) Estrogenic microenvironment generated by organochlorine residues in adipose mammary tissue modulates biomarker expression in Era-positive breast carcinomas (*Breast Cancer Research* 8, R47; 1-9)
- NCEH** - (2005) National Center for Environmental Health: Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals; Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention
- Newbold, R.R., Padilla-Banks, E., Snyder, R.J., Jefferson, W.N.** – (2007) Perinatal exposure to environmental estrogens and the development of obesity (*Molecular Nutritional Food Research* 51; 912-917)
- NIEHS** – (2007) “National Institute of Environmental Health Sciences” <http://www.niehs.nih.gov/> (Consultado em Setembro 2007)

- NRDC** – (2007) <http://www.nrdc.org> (consultado em Março de 2007)
- Odermatt, A., Gumy, C., Atanasov, G., Dzyakanchuk, A.A.** – (2006) Disruption of glucocorticoid action by environmental chemicals: Potential mechanisms and relevance (*Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 102; 222-231)
- Omaye, S.T.** - (2004) *Food and Nutritional Toxicology*, CRC Press, Florida.
- Patisaul, H.B., Fortino, A.E., Polston, E.K.** – (2007) Differential disruption of nuclear volume and neuronal phenotype in the preoptic area by neonatal exposure to genistein and bisphenol-A (*NeuroToxicology* 28; 1-12)
- Pereira, O.C.M.** – (2003) Endocrine disruptors and hypothalamic sexual differentiation (*Annual Review of Biomedical Science* 5; 87-94)
- Pierik, F.H., Klebanoff, M.A., Brock, J.W., Longnecker, M.P.** – (2007) Maternal pregnancy serum level of heptachlor epoxide, hexachlorobenzene, and β -hexachlorocyclohexane and risk of cryptorchidism in offspring (*Environmental Research* doi:10.1016/j.envres.2007.04.005)
- Pinheiro, P.S., Tyczyński, J.E., Bray, F., Amado, J., Matos, E., Parkin, D.M.** - (2003) Cancer incidence and mortality in Portugal (*European Journal of Cancer* 39; 2507-2520)
- Pohl, H.G., Joyce, G.F., Wise, M., Cilento, B.G.** – (2007) Cryptorchidism and Hypospadias (*American Urological Association* 177; 1646-1651)
- Porterfield, S.P.** – (2000) Thyroidal dysfunction and environmental chemicals – Potential impact on brain development (*Environmental Health Perspectives* 108, 3; 433-438)
- Purdue, M.P., Devesa, S.S., Sigurdson, A.J., McGlynn, K.A.** - (2005) International patterns and trends in testis cancer incidence (*International Journal of Cancer* 115; 822-827)

- Reys, L.L** – (2001) Tóxicos ambientais desreguladores do sistema endócrino (*Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa série III* 6, 4; 213-225)
- Richiardi, L., Bellico, R., Adami, H-O-, Torrång, A., Barlow, L., Hakulinen, T., Rahu, M., Stengrevics, A., Storm, H., Tretli, S., Kurtinaitis, J., Tyczynski, J.E., Akre, O.** – (2004) Testicular cancer incidence in eight northern European countries: secular and recent trends (*Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 13, 12; 2157-2166)
- Rignell-Hydbom, A., Axmon, A., Lundh, T., Jönsson, B.A., Tiido, T., SPANO, M.** – (2007) Dietary exposure to methyl mercury and PCB and the associations with semen parameters among Swedish fishermen (*Environmental Health* 6, 14; 1-10)
- Rittler, M., Castilla, E.E.** – (2002) Endocrine disruptors and congenital anomalies (*Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro* 18, 2; 421-428)
- Rodriguez-Mozaz, S., Marco, M-P., de Alda, M.J.L., Barceló, D.** – (2004) Biosensors for environmental monitoring of endocrine disruptors: a review article (*Analytical & Bioanalytical Chemistry* 378; 588-598)
- Rogan, W., Ragan, N.B.** – (2007) Some evidence of effects of environmental chemicals on the endocrine system in children (*International Journal of Hygiene and Environmental Health* 210; 659-667)
- Rogers, M.D.** - (2003) The European Comission’s White Paper “Strategy for a Future Chemicals Policy”: A review (*Risk Analysis* 23, 2; 381-388)
- vom Saal, F.S., Hughes, C.** – (2005) An extensive new literature concerning low-dose effects of Bisphenol_A shows the need for a new risk assessment (*Environmental Health Perspectives* 113, 8; 926-933)
- Safe, S.H** – (2000) Endocrine disruptors and human health – is there a problem? An update (*Environmental Health Perspectives* 108, 6; 487-493)

- Safe, S.H** – (2004) Endocrine disruptors and human health: is there a problem (*Toxicology* 205; 3-10)
- Sant, M., Francisci, S., Capocaccia, R., Verdecchia, A., Allemani, C., Berrino, F.** – (2006) Time trends of breast cancer survival in Europe in relation to incidence and mortality (*International Journal of Cancer* 119; 2417-2422)
- Saradha, B., Mathur, P.P.** – (2006) Effect of environmental contaminants on male reproduction (*Environmental Toxicology and Pharmacology* 21; 34-41)
- Scippo, M-L., Argiris, C., Weerdt, C. V.D., Muller, M., Willemsen, P., Martial, J., Maghuin-Rogister, G.** – (2004) Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors (*Analytical & Bioanalytical Chemistry* 378; 664-669)
- Schmutzler, C., Hamann, I., Hofmann, P.J., Kovacs, G., Stemmler, L., Mentrup, B., Schomburg, L., Ambrugger, P., Grüters, A., Seidlova-Wuttke, D., Jarry, H., Wuttke, W., Köhrle, J.** – (2004) Endocrine active compounds affect thyrotropin and thyroid hormone levels in serum as well as endpoints of thyroid hormone action in liver, heart and kidney (*Toxicology* 205; 95-102)
- Schönfelder, G., Wittfoht, W., Hopp, H., Talsness, C.E., Paul, M., CHADOUD, I.** – (2002) Parent Bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placenta unit (*Environmental Perspectives* 110, 11; A703-A707)
- Sharpe, R.M.** – (2003) The “oestrogen hypothesis”- where so we stand now (*International of Andrology* 26; 2-15)
- Sharpe, R.M., Irvine, D.S.** – (2004) How strong is the evidence of a link between environmental chemicals and adverse effects on human reproductive health? (*British Medical Journal* 328; 447-451)

- Shaw, I., McCully, S.** – (2002) A review of the potential impact of dietary endocrine disrupters on the consumer (*International Journal of Food Science and Technology* 37; 471-476)
- She, J., Petreas, M., Winkler, J., Visita, P., McKinney, M., Kopec, D.** – (2002) PBDEs in the San Francisco Bay Area: measurements in harbour seal blubber and human breast adipose tissue (*Chemosphere* 46; 697-707)
- Slowikowska-Hilczer, J.** – (2006) Xenobiotics with estrogen or antiandrogen action – disruptors of the male reproductive system (*Central European Journal of Medicine* 2, 3; 205-227)
- Šmuc, T., Pucelj, M.R., Šinkovec, J., Husen, B., Thole, H., Rižner, T.L.** – (2007) Expression analysis of the genes involved in estradiol and progesterone action in human ovarian endometriosis (*Gynecological Endocrinology* 23, 2; 105-111)
- Solomon, G.M., Schettler, T.** – (2000) Environment and health: 6. Endocrine disruption and potential human health implications (*Canadian Medical Association or its licensors* 163, 11; 1471-1476)
- SPDEM** – (2007) Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo – <http://www.spedm.org/> (consultado em Novembro de 2007)
- Takayanagi, S., Tokunaga, T., Liu, X., Okada, H., Matsushima, A., Shimohigashi, Y.** – (2006) Endocrine disruptor bisphenol_A strongly binds to human estrogen-related receptor γ (ERR γ) with high constitutive activity (*Toxicology Letters* 167; 95-105)
- The Endocrine Society** – (2007) www.endo-society.org (consultado em Setembro 2007)
- Toppari, J., Haavisto, A-M., ALanen, M.** – (2002) Changes in male reproductive health and effects of endocrine disruptors in Scandinavian countries (*Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro* 18, 2; 413-420)

- Tryphonas, H.** – (2001) Approaches to detecting immunotoxic effects of environmental contaminants in humans (*Environmental Health Perspectives* 109, 6; 877-884)
- Tsai, W.T.** – (2006) Human health risk on environmental exposure to Bisphenol_A: a review (*Journal of Environmental Science and Health Part C* 24; 225-255)
- Virtanen, H.E., Meyts, R-D., Main, K.M., Skakkebaek, N.E., Toppari, J.** – (2005) Testicular dysgenesis syndrome and the development occurrence of male reproductive disorders (*Toxicology and Applied Pharmacology* 207; S501-S505)
- Wang, J., WU, W., Henkelmann, B., You, LI., Kettrup, A., Schramm, K-W.** – (2003) Presence of estrogen activity from emission of fossil fuel combustion as detected by a recombinant yeast bioassay (*Atmospheric Environment* 37; 3225-3235)
- Wang, J., WU, W., Henkelmann, B., You, LI., Kettrup, A., Schramm, K-W.** – (2005) Inhibition of progesterone receptor activity in recombinant yeast by soot from fossil fuel combustion emissions and air particulate materials (*Science of the Total Environment* 349; 120-128)
- Ward, M.H., de kok, T.M., Levallois, P., Brender, J., Gulis, G., Nolan, B.T., Vanderslice, J.** – (2005) Workgroup Report: Drinking-Water nitrate and health – Recent findings and research needs (*Environmental Health Perspectives* 113, 11; 1607-1614)
- Waring, R.H., Harris, R.M.** – (2005) Endocrine disruptors: a human risk? (*Molecular and Cellular Endocrinology* 244; 2-19)
- Whaley, D.A., Keyes, D., Khorramil, B.** – (2001) Incorporation of endocrine disruption into chemical hazard scoring for pollution prevention and current list of endocrine disrupting chemicals (*Drug and Chemical Toxicology* 24, 4; 359-420)
- WHO – OMS** - (2004) Inheriting the world: the atlas of children's health and the environment <http://www.who.int/ceh/publications/posters/en/index.html> (consultado em Novembro de 2007)

- Witorsch, R.J.** – (2002) Endocrine disruptors: can biological effects and environmental risks be predicted? (*Regulatory Toxicology and Pharmacology* 36; 118-130)
- Ye, X., Bishop, A.M., Reidy, J.A., Needham, L.L., Calafat, A.M.** – (2006) Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans (*Environmental Health Perspectives* 114, 12; 1843-1846)
- Zhou, T., Taylor, M.M., de Vito, M.J., Crofton, K.M.** – (2002) Developmental Exposure to Brominated Diphenyl Ethers Results in Thyroid Hormone Disruption (*Toxicological Sciences* 66; 105-116)