

Andreia Barbosa da Costa

DESREGULADORES ENDÓCRINOS NA ALIMENTAÇÃO

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Isabel Rita Barbosa e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de
Coimbra

Junho 2014



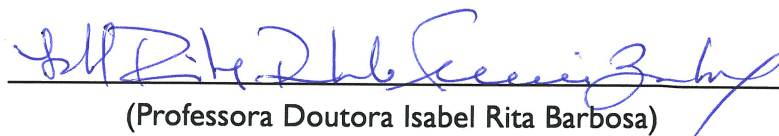
Eu, Andreia Barbosa da Costa, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009009738, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da Unidade Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho de 2014

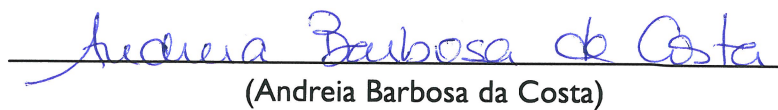
Agradecimentos:

A tutora


A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Isabel Rita Barbosa', is written over a horizontal line.

(Professora Doutora Isabel Rita Barbosa)

A aluna


A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Andreia Barbosa da Costa', is written over a horizontal line.

(Andreia Barbosa da Costa)

No início desta monografia aproveito para agradecer, em primeiro lugar, à minha orientadora, Professora Doutora Isabel Rita Barbosa, que foi incansável, tendo sido excepcional ao longo deste período auxiliando-me em todas as dúvidas e preocupações; sinto-me imensamente agradecida.

Aproveito ainda para agradecer aos meus pais, pelos imensos esforços realizados para me oferecerem as melhores condições e me fazerem feliz neste anseio; ao Miguel, que em todos os momentos me apoiou; à minha madrinha de batismo, que sempre me alegrou com o seu humor e boa disposição; às minhas amigas, essencialmente aquelas que me acompanharam de forma permanente ao longo do curso; à minha madrinha de curso, que foi sempre atenciosa, carinhosa e amiga; e, por fim a todos os professores da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, que nos motivam e exigem sucesso profissional.

Índice:

Lista de abreviaturas e acrónimos	2
Resumo	4
Abstract	4
Introdução	5
Principais compostos que se encontram presentes nos alimentos	8
Bisfenol-A	10
Descrição Geral	10
Estudos Epidemiológicos	11
Ftalatos	13
Descrição Geral	13
Estudos Epidemiológicos	14
Parabenos	17
Descrição Geral	17
Estudos Epidemiológicos	19
Éteres Difenílicos Polibromados	20
Descrição Geral	20
Estudos Epidemiológicos	22
Conclusão	23
Bibliografia	24

Lista de abreviaturas e acrónimos:

AGD - **distância anogenital**
BBzP – **butilbenzil ftalato**
BPA - **bisfenol A**
Br - **bromo**
BuP - **butil parabeno**
BzP – **benzil parabeno**
CR – **carbonatada**
DBP - **dibutil ftalato**
DDA - **dose diária aceitável**
DE - **desreguladores endócrinos**
DEHP – **dietilhexil ftalato**
DEP – **dietil ftalato**
DiBP – **di-isobutil ftalato**
DiNP – **di-isononil ftalato**
DMP – **dimetil ftalato**
EEQ - **estradiol equivalent concentration**
EtP – **etil parabeno**
FSH – **hormona folículo-estimulante**
HDPE - **polietileno de alta densidade**
HPLC – **cromatografia líquida de alta eficiência**
LH – **hormona luteínica**
LOD - **limite de deteção**
LOQ – **limite de quantificação**
MBP – **mono butil ftalato**
MBzP – **mono benzil ftalato**
MEHP - **mono-(2-etil-5-oxohexil) ftalato**
MEOHP - **mono-(2-etil-5-oxohexil) ftalato**
MeP – **metil parabeno**
MEP – **mono etil ftalato**
MiBP – **mono isobutil ftalato**
MiNP – **mono isononil ftalato**
MMP – **mono metil ftalato**

NCR – **n**ão **c**arbonatada
NCRE – **n**ão **c**arbonatada **e**nriquecida
PET – **p**olietileno **t**ereftalato
PA - **p**lastic **a**dditive
PBDE - **é**teres **d**ifenílicos **p**olibromados
PC – **p**olicarbonato
PET - **p**olietileno **f**talato
PM - **p**eso **m**olecular
ppt- **p**artes **p**or **t**rilhão
PrP - **p**ropil **p**arabeno
PS – **p**oliestireno
PVC – **p**olicloreto de **v**inilo
Sb - antimónio
SE - **s**istema **e**ndócrino
SR - **s**istema **r**eprodutor
T3 – **t**riiodotironina
T4 – **t**iroxina
TDS – **t**esticular **d**igenesis **s**ndrome
TSH – **h**ormona **e**stimulante da **t**iróide
UV - **u**ltravioleta

Resumo:

O sistema endócrino (SE) é constituído por um conjunto de tecidos que comunicam entre si através de hormonas. Este é responsável por um conjunto de mecanismos corporais, como: diferenciação celular, formação e desenvolvimento de órgãos até à idade adulta.

Um desregulador endócrino (DE) pode ser definido como uma substância exógena ou mistura de substâncias que alteram as funções do sistema endócrino e desta forma são capazes de provocar efeitos adversos na saúde humana e animal.

Os DE podem interagir com o sistema endócrino, mimetizando ou bloqueando as hormonas naturais ou os seus mecanismos, assim como podem influenciar a produção, secreção ou metabolismo de hormonas endógenas e ou dos seus recetores. Dentro desta vasta gama de compostos considerados como desreguladores endócrinos, nesta monografia coloca-se em evidência o bisfenol-A (BPA), os ftalatos, os parabenos e os éteres difenílicos polibromados (PBDEs).

Esta monografia tem por objectivo fazer uma revisão bibliográfica da presença destes compostos nos alimentos devido ao aumento de doenças relacionadas, principalmente ao nível do sistema reprodutor e endócrino, como por exemplo o desenvolvimento precoce dos órgãos sexuais, vários tipos de cancros hormono-dependentes, anormalidades reprodutivas e infertilidade, podendo ainda afetar a tiróide, metabolismo dos lípidos, insulina, entre outros.

Abstract:

The endocrine system (SE) is constituted by a set of tissues which communicate with each other by hormones. This is responsible for a number of bodily mechanisms, such as cell differentiation, organ formation and development to adulthood.

An endocrine disrupter (DE) can be defined as an exogenous substance or mixture of substances amending the functions of the endocrine system and thus are able to cause adverse effects on human and animal health.

The DE can interact with the endocrine system, blocking or mimicking natural hormones and their mechanisms, as may influence the production, secretion or metabolism of endogenous hormones or their receptors. Within this wide range of compounds considered as endocrine disrupters this monograph puts in evidence the bisphenol-A (BPA), phthalates, parabens and polybrominated diphenyl ethers.

This monograph is intended to perform a bibliographic review of these compounds in food due to the increase of diseases, especially the reproductive and the endocrine system, such as the early development of the sexual organs, several hormone-dependent cancers, abnormal level infertility and reproductive, and may also affect the thyroid gland, lipid metabolism, insulin, among others.

Introdução:

Nas últimas décadas temos assistido a uma crescente preocupação sobre as possíveis consequências à exposição de xenobióticos que são capazes de modular ou causar desregulação do sistema endócrino, os denominados Desreguladores Endócrinos (DEs). Esta preocupação está direcionada não só para a saúde humana, mas também para os impactos ao nível da vida selvagem e ambiente, sendo já uma prioridade em termos de investigação e legislação na União Europeia. Recentemente a OMS editou um relatório -*State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals-2012*-¹ no qual alerta para os potenciais perigos dos efeitos destas substâncias e para a necessidade de se investigar melhor o seu real impacto sobre a saúde humana e no ambiente. Este relatório apresenta a mais completa descrição acerca dos DEs até à data, realçando algumas “associações entre a exposição aos DEs e problemas de saúde, incluindo o potencial de tais químicos poderem contribuir para o cancro da mama em mulheres, cancro da próstata em homens, alterações no sistema nervoso em crianças, hiperatividade e défice de atenção em crianças e cancro da tiróide”.

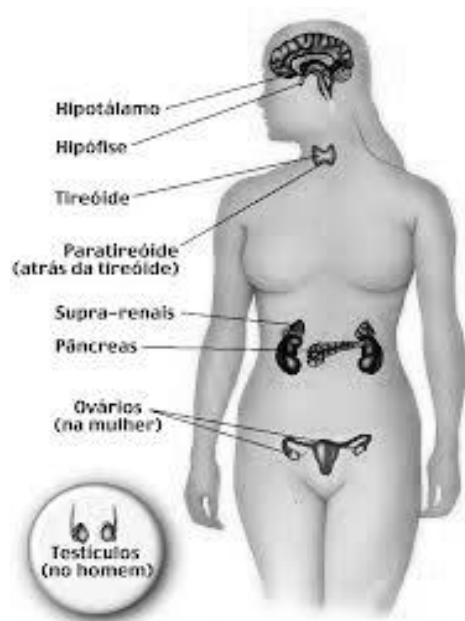


Figura I – Representativa do Sistema Endócrino.

Para percebermos como e onde atuam os desreguladores endócrinos, é importante conhecer as bases do sistema endócrino (SE). O sistema endócrino (Figura 1) é constituído por um conjunto de tecidos que comunicam entre si através de hormonas (moléculas produzidas por glândulas endócrinas, que são transportadas pelo sangue a diversos locais, interagindo com diversos mecanismos, como por exemplo, recetores das hormonas). Este é responsável por um conjunto de mecanismos corporais, como: diferenciação celular, formação e desenvolvimento de órgãos até à idade adulta.

De acordo com a OMS um desregulador endócrino é definido como “uma substância ou mistura exógena que altera funções do sistema endócrino e conseqüentemente causa efeitos de saúde adversos num organismo intacto, nos seus descendentes ou sub - populações”¹.

Os DEs exibem as mesmas características das hormonas podendo imitar a atividade biológica de uma hormona (efeito agonista), ligar-se ao recetor mas não ativando-o (efeito antagonista), ligar-se a proteínas transportadoras no sangue, alterando a quantidade de hormonas naturais presentes em circulação e, interferindo com processos metabólicos do organismo afetando a síntese das hormonas naturais. Tal como as hormonas que atuam ligando-se a recetores em concentrações muito baixas, os DEs também têm a capacidade de serem ativos em concentrações baixas. Desta forma, a exposição a estes compostos pode levar a um conjunto de conseqüências na saúde humana como ao desenvolvimento precoce dos órgãos sexuais, cancros hormono - dependentes (como cancro do testículo e da mama), anormalidades reprodutivas e infertilidade, podendo ainda afetar a tiróide, metabolismo dos lípidos, insulina, entre outros². Nas mulheres, pode essencialmente aumentar o risco de endometriose, cancro no sistema reprodutor e endócrino, alteração da capacidade de multiplicação dos oócitos, ovários e ciclo menstrual^{5,6}. Nos homens, diminui a capacidade reprodutiva, aumenta o risco de cancro testicular e prostático, entre outros não tão relevantes devido ao menor número de casos^{7,8}.

Dados obtidos a partir da experimentação animal e de estudos em humanos mostram que a exposição a DEs durante a gestação e a puberdade tem um papel determinante no aumento de doenças reprodutivas, mais precisamente, pode levar a alterações no desenvolvimento sexual⁹, desenvolvimento neurológico e reprodutivo^{10,11,12,13,14} e ainda, aumento do risco de problemas reprodutivos ou cancro em estadios mais tardios da vida^{15,16,17} representando as crianças um grupo vulnerável à exposição dos DEs.

Visto que muitas pessoas estão expostas a um grande número de DEs suspeitos, mesmo que estes tenham, aparentemente, associações epidemiológicas subtis, podem resultar

num aumento de doenças relacionadas (sistema reprodutor e endócrino) na população, sendo por isso, alvo de preocupação para a saúde humana.

A presença destes compostos no nosso dia-a-dia é muito comum, já que podemos encontrá-los em equipamentos elétricos, no revestimento de latas de conserva, em cosméticos, em alimentos e animais e, ainda na água, no ar e no solo. A diversidade de produtos químicos inclui hormonas naturais e sintéticas, fitoestrogénios, pesticidas e uma variedade de produtos químicos industriais e subprodutos. Esta enorme diversidade torna difícil definir um DE "típico" e, cada caso deve ser cuidadosamente avaliado quanto aos compostos a medir e, em que matriz ou tecido biológico deve ser feito.

Para além da sua diversidade estrutural os DE possuem uma gama de diferentes características físico-químicas. Alguns são persistentes e lipofílicos, armazenados no tecido adiposo e secretados no leite, enquanto outros são hidrofílicos e rapidamente se degradam podendo estar presentes em breves períodos de tempo, mas em períodos críticos de desenvolvimento. Outros são misturas complexas (por exemplo, o tratamento de resíduos de águas residuais, efluentes industriais) que contêm componentes "hormonalmente ativos", mas a entidade química específica ainda não foi completamente caracterizada.

A alimentação é a principal via de exposição para o ser humano^{18,19} e a que está mais relacionada com a poluição do solo.

A capacidade dos DE em bioacumular nos tecidos gordos dos animais faz com que estes xenobióticos permaneçam na cadeia alimentar e desta forma alcancem o Homem. Os animais que mais contribuem para o aumento de hormonas no solo a partir de dejetos são os porcos e o gado bovino, com valores de 2300µg/dia e 540µg/dia, respetivamente. Se a isto associarmos a utilização de pesticidas e adubos na agricultura a contaminação do solo e de culturas com estas hormonas é evidente²⁰. Mas os alimentos consumidos pelo ser humano não são apenas contaminados desta forma, pois as próprias embalagens utilizadas podem possuir compostos deste tipo^{18,21}. Isto é, os seres humanos tendem a consumir tanto alimentos de origem vegetal como de origem animal e porque as escolhas alimentares variam de acordo com a cultura e a região geográfica de uma população, a exposição a potenciais DE diferem consideravelmente de pessoa para pessoa, sendo que verifica-se a existência de diferentes concentrações de DE nos indivíduos residentes da Europa e da América, o que se pode dever, às diferentes gastronomias, culturas, formas de manipulação e manufatura de diferentes objetos e embalagens, grau de industrialização, entre outros. Na verdade, estes compostos desreguladores endócrinos encontram-se difundidos em todo o mundo, a população encontra-se continuamente exposta, o que faz com que sejam necessários novos

estudos, mais medidas de segurança e de prevenção do risco, para que os efeitos adversos destes não despoletem na população.

Por todas estas razões, nesta monografia irei salientar a importância da presença e do estudo de certos compostos que atuam como Desreguladores Endócrinos existentes nos alimentos de que são exemplo o bisfenol-A, os ftalatos, os parabenos e finalmente os éteres difenílicos polibromados.

Principais compostos DE que se encontram presentes nos alimentos

Um grande número de produtos químicos pertencentes a diversas classes agora identificados como desreguladores endócrinos, incluem: aditivos em materiais, bens de consumo (produtos farmacêuticos, produtos de higiene pessoal, produtos eletrônicos, embalagens de alimentos, roupas, entre outros), metais, bem como o uso corrente de pesticidas. Estes compostos surgem de fontes variadas, entram no ambiente durante a produção, utilização ou eliminação de produtos e atuam a baixas concentrações aumentando o risco de efeitos.

A Tabela I apresenta parte dos DEs que já foram identificados na literatura, estando os compostos agrupados em onze classes de acordo com as suas características físico-químicas ou origens/áreas de aplicação¹. Em contraste com uma década atrás, há uma melhor percepção de que os produtos industriais e de consumo podem conter, conhecidos ou potenciais DEs. Por exemplo, cosméticos e outros produtos de higiene pessoal (champôs e outros produtos para o cabelo, pasta de dentes, sabonetes, loções) contêm fragrâncias (por exemplo, Galaxolide), solventes (por exemplo, metil siloxanos cíclicos), conservantes (por exemplo, parabenos), plastificantes (por exemplo, ésteres de ftalato), antimicrobianos (por exemplo, triclosan), agentes químicos de estabilização (por exemplo, ftalatos) e metais (por exemplo, chumbo, arsénio, mercúrio). A maioria são intencionalmente adicionados a estes produtos, mas alguns podem ser contaminantes com nenhum benefício óbvio dessa adição.

Tabela nº1 – Os desreguladores endócrinos podem ser agrupados de várias maneiras. Nesta tabela os conhecidos ou potenciais DE são agrupados em 11 categorias com exemplos. Os compostos a “**bold**” são considerados como de interesse específico como DE¹.

Classification	Specific Examples of EDCs ¹
Persistent and bioaccumulative halogenated chemicals	
Persistent Organic Pollutants (POPs) (Stockholm Convention)	PCDDs/PCDFs, PCBs , HCB, PFOS , PBDEs , PBBs, Chlordane, Mirex, Toxaphene, DDT /DDE, Lindane, Endosulfan
Other Persistent and Bioaccumulative Chemicals	HBCDD , SCCP, PFCAs (e.g. PFOA), Octachlorostyrene, PCB methyl sulfones
Less persistent and less bioaccumulative chemicals	
Plasticizers and Other Additives in Materials and Goods	Phthalate esters (DEHP , BBP, DBP, DiNP), Triphenyl phosphate, Bis(2-ethylhexyl)adipate, n-Butylbenzene, Triclocarban, Butylated hydroxyanisole
Polycyclic Aromatic Chemicals (PACs) including PAHs	Benzo(a)pyrene , Benzo(a)anthracene, Pyrene, Anthracene
Halogenated Phenolic Chemicals (HPCs)	2,4-Dichlorophenol, Pentachlorophenol, Hydroxy-PCBs, Hydroxy-PBDEs, Tetrabromobisphenol A, 2,4,6-Tribromophenol, Triclosan
Non-halogenated Phenolic Chemicals (Non-HPCs)	Bisphenol A , Bisphenol F, Bisphenol S, Nonylphenol, Octylphenol, Resorcinol
Pesticides, pharmaceuticals and personal care product ingredients	
Current-use Pesticides	2,4-D, Atrazine , Carbaryl, Malathion, Mancozeb, Vinclozolin , Prochloraz, Procymidone, Chlorpyrifos, Fenitrothion, Linuron
Pharmaceuticals, Growth Promoters, and Personal Care Product Ingredients	Endocrine active (e.g. Diethylstilbestrol, Ethinylestradiol, Tamoxifen, Levonorgestrel), Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs; e.g. Fluoxetine), Flutamide, 4-Methylbenzylidene camphor, Octyl-methoxycinnamate, Parabens, Cyclic methyl siloxanes (D4, D5 , D6), Galaxolide, 3-Benzylidene camphor
Other chemicals	
Metals and Organometallic Chemicals	Arsenic, Cadmium, Lead, Mercury, Methylmercury , Tributyltin, Triphenyltin
Natural Hormones	17 β -Estradiol, Estrone, Testosterone
Phytoestrogens	Isoflavones (e.g. Genistein, Daidzein), Coumestans (e.g. Coumestrol), Mycotoxins (e.g. Zearalenone), Prenylflavonoids (e.g. 8-prenylnaringenin)

¹See Appendix II for full names and abbreviations of the chemicals mentioned.

Na presente monografia apresentarei DEs sintéticos, que se salientam na atualidade como principais compostos que podem atuar como DE nos alimentos dadas as fortes evidências da sua vasta exposição nos humanos, sendo estes: o bisfenol-A (BPA), os ftalatos, os parabenos e os éteres difenílicos polibromados (PBDEs).

Bisfenol – A:

Descrição Geral:

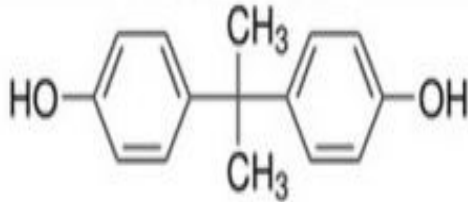


Figura 2- Estrutura química do bisfenol A.

O bisfenol A é um composto com uma estrutura química de difenilalcano hidroxilado, que contém dois anéis aromáticos unidos por uma ligação de carbono. Tal como um fenol, o BPA é moderadamente hidrofóbico ($\log K_{ow} = 3,3$) e solúvel em água (solubilidade = 120 mg /L)¹. É um composto muito usado na produção de plásticos policarbonados (~95%) e em resinas. São também usados na produção de embalagens para alimentos e de bebidas reutilizáveis incluindo biberões, garrafas de leite e de água, em utensílios de mesa, e em tubagens de água. Vários países já proibiram o uso de biberões policarbonados baseados em BPA. Também são usados como aditivos em outros plásticos como PVC e PET, numa grande variedade de produtos de papel e papel reciclado e, ainda usado em tratamentos dentários¹⁸.

A via de exposição a estes compostos mais significativos é através da alimentação. Este composto é biodegradável, apresenta uma baixa capacidade para se acumular e, pode contaminar os alimentos a partir do revestimento das embalagens que os envolvem tendo sido encontrado em vários alimentos consumidos pelo homem. A presença deste composto na alimentação está relacionada com a capacidade de se transferir para o alimento, através de migração (libertação intencional e não intencional de substâncias químicas dos polímeros) principalmente quando sujeito a temperaturas elevadas ou em contacto com meios ácidos ou básicos. Um outro meio de contaminação é a água engarrafada, através dos materiais de embalagem dessas mesmas garrafas^{3,4}.

De facto, o potencial de exposição ao BPA foi demonstrado num estudo nos EUA, em que cerca de 92,6% das amostras urinárias apresentavam este composto numa concentração

entre os 0,4 µg/L e 149 µ/L²⁴. A reforçar os achados anteriores, Vandenberg e os seus colaboradores relatam a existência de níveis relativamente elevados de BPA no fluido amniótico, fluido folicular, placenta e sangue do cordão umbilical²⁵.

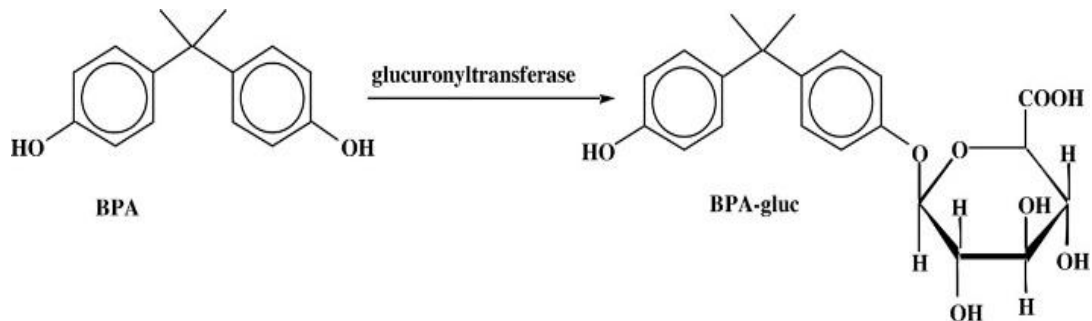


Figura 3 - Biotransformação do BPA no Homem.²⁶

O BPA apresenta um eficiente metabolismo de primeira passagem no fígado, após exposição por via oral, sendo rapidamente convertido por glucoronidação no único metabolito detetado (BPA-Glucoronido, Fig. 3), desprovido de atividade estrogénica após absorção oral de doses relativamente baixas²⁷. Embora o BPA seja rapidamente metabolizado ele persiste continuamente no organismo humano devido às várias fontes de exposição que ocorrem de várias formas e de modo continuado^{3,4}.

Estudos Epidemiológicos:

Pela análise de estudos realizados, pode-se concluir que o BPA tem sido definido como consequência de doenças que surgem da sua ingestão. Num estudo, descrito por Sugiura-Ogasawara e seus colaboradores, no qual utilizaram 32 mulheres, com e sem problemas de fertilidade, tendo como objetivo examinar a interação existente entre BPA e a infertilidade, mais precisamente com o aborto espontâneo em mulheres grávidas, obteve-se como resultado uma maior quantidade de BPA (três vezes mais) nas mulheres que tiveram três ou mais abortos espontâneos²⁸. É facilmente denotado que o BPA aporta efeitos negativos ao nível do desenvolvimento fetal, levando a que, a sua exposição e consequente ingestão alterem fatores fisiológicos aquando da gravidez e desta feita, haja uma interrupção

da gravidez com consequente aborto. Também Takeuchi e seus colaboradores concluíram que mulheres com síndrome dos ovários policísticos têm maior concentração de BPA no soro quando comparados com mulheres sem a síndrome referida²⁹.

Por outro lado Akingbemi e os seus colaboradores salientam que o BPA pode alterar a produção de testosterona³⁰, refletindo desta feita a sua ação ao nível do desenvolvimento das hormonas sexuais masculinas.

Num estudo japonês com 248 mulheres foi detetada maior concentração de BPA no soro de mulheres com cariótipo anormal (n=48 mulheres) do que nas mulheres com cariótipo normal (n=200 mulheres)³¹.

O BPA pode ainda, ao nível das hormonas da tiróide, conduzir à sua desregulação, dada a sua capacidade em mimetizar/antagonizar tais hormonas³².

Para além das investigações recentes, foi demonstrado que o BPA tem a capacidade de ativar um elevado número de recetores hormonais, incluindo recetores androgénicos e da tiróide, associados com a membrana plasmática de diferentes células alvo^{33,34}.

Para concluir, baixas doses de BPA têm sido responsáveis por alterar a estrutura e química do cérebro, comportamento, sistema imune, atividade enzimática, sistema reprodutor masculino e feminino. A ação do BPA enquanto DE está associada à existência de recetores estrogénicos (α ou β) à superfície das células, que influenciam a dose requerida de BPA para estimular uma resposta³⁴. Resultados de diferentes estudos mostram ainda que o BPA tem a capacidade de se ligar a proteínas que regulam a entrada de químicos estrogénicos nos tecidos.

É evidente que, a concentração biológica de BPA no sangue encontra-se, na grande maioria dos estudos, abaixo do intervalo que tem sido demonstrado como causador de alterações em tecidos humanos. No entanto, quando há dúvidas que se associam a riscos de saúde, deve – se agir, sempre, com precaução.

Por fim, são necessárias mais medidas de segurança e novas doses de referência para o BPA baseada em informação obtida de estudos de baixa dose de BPA, de forma a diminuir os riscos associados a estes compostos. Tais dados tornam-se, nos dias de hoje, importantes, dada a vasta e contínua exposição a estes compostos ubíquos na natureza.

Ftalatos:

Descrição Geral:

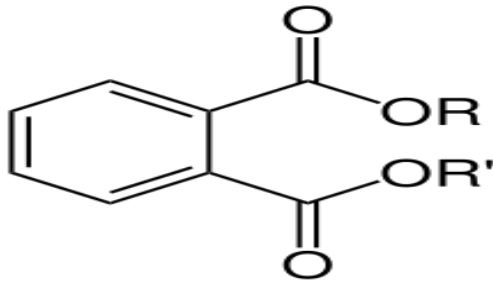


Figura nº4 – Estrutura química geral dos ftalatos.

Os ftalatos são diésteres do ácido 2 - benzodicarboxílico (ácido ftálico), apresentam-se como um líquido oleoso à temperatura ambiente, com baixa solubilidade na água e um K_{ow} de aproximadamente 7.5¹. São largamente utilizados para fornecer aos plásticos a sua flexibilidade característica, sendo encontrados em várias embalagens de produtos comerciais, onde se encontram não covalentemente ligados, facilitando a sua migração para o meio ambiente envolvente, tornando-se contaminantes largamente difundidos e ubíquos na natureza, tendo sido descritos como “*substâncias com baixa atividade estrogénica*”^{36,37}.

Os diferentes ftalatos apresentam diferentes potências, relacionadas com o comprimento das suas cadeias alquílicas, sendo que os ftalatos mais potentes são aqueles que apresentam uma cadeia alquílica mais comprida, entre 4 a 6 carbonos^{39,40}. Assim, os ftalatos dimetilicos que possuem cadeias alquílicas mais curtas são os menos tóxicos³⁸. Por outro lado, os dibutil ftalatos sendo compostos com cadeias alquílicas mais compridas levam a alterações ao nível da fertilidade, maturação sexual, desenvolvimento da gravidez e do trato reprodutivo masculino³⁸ como se denota pelo aumento dos abortos ou mesmo morte dos fetos a doses de 500 mg/kg/d de DBP em ratos^{42,43,44}, assim como alterações ao nível do sistema reprodutor de ratos nascidos de fêmeas expostas⁴¹.

Existem várias fontes de exposição aos ftalatos, no entanto estes encontram-se, principalmente, nas embalagens de produtos de consumo, sendo ingeridos via oral; podem ser encontrados também nas matrizes de produtos cosméticos^{35,36,45} e ainda em vários

dispositivos médicos^{46,48,93}. As mulheres, visto serem utilizadoras frequentes de produtos cosméticos, apresentam maiores concentrações urinárias de ftalatos³⁶.

Os ftalatos são rapidamente metabolizados e excretados na urina e fezes, tendo um tempo de meia vida curto, de horas a dias, são compostos que não sofrem extensa bioacumulação⁹³. A melhor forma de medir a concentração de mono ésteres de ftalatos é através da sua medição na urina⁵¹. A partir de marcadores urinários foram descritos os seguintes intervalos de concentrações urinárias de ftalatos: 2,32–12 µg/kg/d para o dietil ftalato (DEP), 0,26–0,88 µg/kg/d para o butilbenzil ftalato (BBzP), 0,84–5,22 µg/kg/d para o dibutil ftalato (DBP), 0,12–1,4 µg/kg/d para o di-isobutil ftalato (DiBP), 0,71–4,6 µg/kg/d para o dietilhexil ftalato (DEHP) e 0,29 µg/kg/d para o di-isononil ftalato (DiNP), factos retirados de amostras dos Estados Unidos da América e da Alemanha⁵².

Estes compostos apresentam variabilidade temporal, como resultado de possíveis alterações na fonte de exposição, como: dieta, alteração do metabolismo dos xenobióticos, entre outros, o que leva à conclusão de que a medição da concentração dos metabolitos de ftalatos na urina pode variar em curtos períodos de tempo, como dias⁵³.

Por fim, os ftalatos têm sido alvo de várias preocupações devido ao seu potencial de migração do revestimento das embalagens para os alimentos, por isso a sua presença em brinquedos e produtos pediátricos é regulada pela União Europeia⁵⁴ e outros países⁵⁵.

Estudos Epidemiológicos:

A exposição a estas substâncias tem demonstrado a associação a várias doenças, que surgem da sua ingestão, atuando como desreguladores endócrinos. Alguns ftalatos foram considerados responsáveis por diminuir o peso testicular e provocar atrofia dos tubos seminíferos, aumentar as alterações do DNA espermático, desenvolvimento precoce dos peitos nas raparigas, mulheres com períodos de gravidez mais curtos e diminuir a distância anogenital em rapazes recém-nascidos, como irei expor de seguida.

Num estudo transversal efetuado em 84 recém-nascidos foi detetada a presença de DEHP no cordão umbilical que mostrou estar associado a uma diminuição do tempo gestacional⁵⁷. Contudo, num estudo *cohort* multicêntrico realizado nos USA, a 283 mulheres grávidas, foi reportado um aumento do tempo de gestação com o aumento da concentração urinária de metabolitos do DEHP⁵⁸.

Uma associação inversa entre o MBP (metabolito ativo do DBP) e os níveis de testosterona; assim como, associação positiva entre MEP, MMP, MBP, MiNP e a LH, e entre MEP e MBP e a hormona de ligação da globulina, foram reportadas num estudo⁵⁹.

Dois estudos mais recentes mostraram que a exposição aos ftalatos durante a gestação reduz a produção de testosterona pelas células de Leydig através da diminuição da expressão do gene da biossíntese/captação do colesterol e das vias enzimáticas estrogénicas. A redução de testosterona fetal leva a um conjunto de resultados evidenciados como anormalidades observáveis incluindo: retenção do mamilo, diminuição da distância anogenital e malformações genitais^{60,61}.

A relação entre a exposição das mães a ftalatos e os parâmetros genitais masculinos dos bebés após o nascimento foi examinada num estudo com 85 mulheres grávidas no qual observou-se que nas mães a concentração dos 3 metabolitos (relacionados com o risco da descida incompleta dos testículos) do DEHP eram significativas e inversamente relacionadas com o AGD (medida, nos homens, desde o centro do ânus até à cabeça da base do pénis). Cada um dos três metabolitos do DEHP demonstrou relação com a descida testicular incompleta. Desta forma pode-se concluir que existe uma relação inversa entre AGD, descida testicular, largura do pénis com um ou mais metabolitos do DEHP assim como entre o AGD e os ftalatos, MEP e MBP⁶².

Num estudo com indivíduos adultos do sexo masculino, com o intuito de analisar a qualidade do sémen, verificou-se da análise do plasma seminal, a presença de DMP, DEP, DBP, BBzP, DEHP e di-n-octyl ftalatos. A concentração de ftalatos mostrou estar inversamente correlacionada com a morfologia do esperma mas não correlacionada com o volume de ejaculações, concentração espermática e mobilidade; não relacionando-se com etiologias evidentes.⁶⁴

Em casais inférteis foi observada correspondência entre MBP e os baixos valores de referência de mobilidade e concentração espermática^{22,65}. Num estudo mais recente, usando os 168 homens do estudo anterior, acrescentando mais 295 recrutados pela primeira vez, foram confirmados os resultados anteriores, todavia não ficou claro se estes homens são mais suscetíveis aos ftalatos do que a generalidade dos homens⁶⁶.

Uma associação positiva entre MBP e a glicoproteína-inibina B e uma associação inversa entre a FSH e a MBzP urinária foram os resultados obtidos noutra estudo efetuado numa clínica de infertilidade⁶⁷.

Por outro lado, num estudo em raparigas com telarca precoce e com raparigas de um grupo controlo denotou-se uma ampla diferença no soro para o DEHP com uma concentração de 450 ng.mL^{-1} e de 70 ng.mL^{-1} , respetivamente.⁶³

Estes compostos encontram-se também em dispositivos médicos^{46,48,93}. Num estudo em latentes em contacto com PVC observaram que os bebés expostos ao DEHP apresentavam distúrbios pulmonares semelhantes aos observados na doença da membrana hialina, tendo sido sugerida como causa a exposição a estes ftalatos.⁶⁸

A relação entre a exposição aos ftalatos e o diâmetro da cintura foi estudado em adultos do sexo masculino. Neste estudo verificou-se a existência de associação entre a concentração dos metabolitos de mono-ésteres de ftalatos (MBzP, MEHP, MEOHP e MEP) e aumento da resistência à insulina, assim como entre os mono-ésteres de ftalatos e o diâmetro da cintura⁶⁹.

A diminuição do tempo de gestação aquando da exposição aos ftalatos foi demonstrada num estudo realizado em 311 mulheres⁷¹.

Um estudo de *cohort* prospetivo com 417 mulheres e respetivos filhos reportou uma diminuição no desenvolvimento físico e mental dos recém-nascidos de mães que apresentaram maior concentração urinária (na gestação) de DEHP e DBP⁷⁰.

Foi ainda reportada a existência de associação inversa entre DBP e a atividade da tiróide em mulheres grávidas sendo que o seu mecanismo de acção encontra-se pouco claro⁷².

O potencial para efeitos aditivos e evidência de efeitos adversos da exposição a ftalatos em gerações subsequentes e em concentrações mais baixas do que aquelas a que a geração parental foi exposta, realça a necessidade de estudos mais aprofundados³⁸. Como resultado de todas as variadas formas de exposição aos ftalatos, pode-se afirmar que a exposição a estes compostos está largamente difundida^{73,74}.

Os estudos epidemiológicos associam os ftalatos a várias doenças e uma vez que a exposição a estes é contínua os riscos associados aumentam consideravelmente. Para além disso, os estudos realizados têm sido baseados na exposição a ftalatos simples, no entanto, a exposição a misturas de ftalatos tende a ser mais prejudicial³⁸. Assim, para melhor perceber os riscos associados à exposição a misturas de ftalatos, são necessários mais estudos envolvendo todas estas vertentes.

Parabenos:

Descrição Geral:

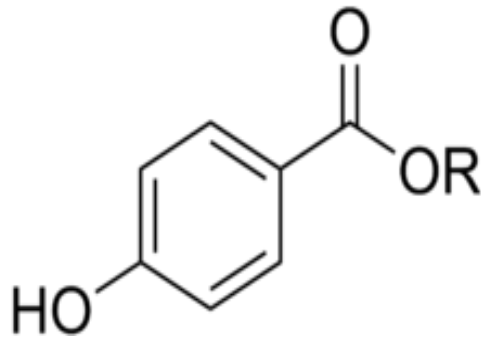


Figura nº5 – Estrutura química dos parabenos, onde R pode ser o grupo: metilo (CH₃), etilo (C₂H₅), propilo (C₃H₇) ou butilo (C₄H₉).

Os parabenos são ésteres alquílicos do ácido p-hidroxibenzóico, um grupo de químicos homólogos que incluem: metilparabeno (MeP), etilparabeno (EtP), propilparabeno (PrP), butilparabeno (BuP) e benzilparabeno (BzP). Os parabenos são estáveis, solúveis em água e com grande espectro de atividade anti – microbiana⁷⁵ que aumenta com o aumento da cadeia carbonada do substituinte do éster, enquanto a sua solubilidade na água decresce proporcionalmente⁷⁶. A união FAO / WHO Expert Committee on Food Additives recomendam como dose diária aceitável (DDA) para o conjunto dos 3 parabenos (MeP, EtP e PrP) o valor de: 0 – 10 mg/Kg de peso corporal (bw) por dia⁷⁷. Em alguns países, como na Dinamarca, o uso destes compostos, principalmente em produtos para crianças foi banido⁷⁸.

Os parabenos são ótimos conservantes a baixa concentração. Os mais utilizados nos produtos de revestimento de alimentos são o MeP e o PrP⁷⁶. Contudo todos os diferentes parabenos encontram-se presentes nos alimentos como demonstrado num estudo no qual os alimentos foram agrupados em oito categorias: bebidas (n=33, água engarrafada, bebidas carbonatadas, vinho, cerveja, sumo), produtos diários (n=31, leite, fórmulas infantis, iogurtes, gelados, queijos e gelados), gorduras e óleos, peixe (água do mar, marisco, etc), grãos (arroz, pão, massa, pizza, bolachas, bolos, etc), carne (porco, galinha, peru, fiambre, etc), frutas e vegetais (brócolos, cebola, cenoura, tomate, batata, entre outros), sendo examinados por

análise cromatográfica com espectrometria de massa (HPLC-MS). Os resultados obtidos mostram que nas 267 amostras de alimentos utilizadas, 243 (91%) continham MeP a concentrações acima do LOQ a 409 ng/g de peso húmido com um significado de 5,83 ng/g. A maior concentração de MeP (409 ng/g) foi encontrada numa amostra de xarope de panqueca (na categoria dos grãos); outras amostras como o *ice tea* (97 ng/g), *muffins* (83ng/g), pudim (51 ng/g) e peru (44 ng/g) também continham elevada concentração de MeP⁷⁹.

A exposição aos parabenos acontece essencialmente através de ingestão, inalação e absorção dérmica por intermédio de várias fontes^{75,104,106}. No organismo humano, estes são metabolizados a ácido p-hidroxibenzoico, metabolito comum de todos os parabenos. Dado que os parabenos são excretados poucas horas após a exposição, são considerados químicos pouco persistentes, sendo detetados, essencialmente, ao nível da urina⁸⁰.

Num estudo feito em amostras de urina obtiveram-se concentrações de MeP entre 1,0 a 17,300 µg/L em 99,1% das pessoas examinadas e concentrações de PrP entre 0,2–7,210 µg/L em 92,7% das amostras. O EtP e o BuP foram encontrados com menor frequência e a concentrações mais baixas (42,4%, 1,0 – 1,11 µg/L e 47%, 0,2 – 1,24 µg/L, respetivamente) que os anteriores⁸². A elevada frequência de deteção de MeP e de PrP deve-se ao uso alargado dos parabenos na alimentação e em produtos de cuidados pessoais, como loções, cosméticos, preparações de cabelos, entre outros⁷⁵.

A presença destes compostos na urina foi também comprovada pelo estudo de Smith e os seus colaboradores, no qual utilizaram amostras de urina de 245 homens e 408 mulheres, observaram-se concentrações maiores e mais variáveis de parabenos nas mulheres em relação aos homens, assim como maior variação de concentrações em amostras de mulheres grávidas quando comparadas com amostras anteriores à gravidez⁸¹.

Para além das demais vantagens associadas a estes compostos enquanto conservantes na alimentação, os parabenos apresentam perigos quando utilizados em larga escala e sem restrições no seu uso, atingindo concentrações fora do intervalo de segurança e atuando como Desreguladores Endócrinos.

Estudos Epidemiológicos:

Os parabenos quando no organismo humano em determinadas concentrações específicas, podem levar à alteração de fatores metabólicos e fisiológicos inerentes aos indivíduos, havendo alterações negativas ao nível do equilíbrio e bem-estar do organismo humano.

Como desreguladores endócrinos os parabenos apresentam fraca atividade estrogénica sendo o mais potente o BuP (mas consideravelmente menos potente que o estrogénio natural)⁸³. Mesmo assim, a partir de estudos animais, comprovou-se que ratos expostos a PrP e BuP sofrem uma diminuição da produção de esperma^{84,85}, assim como um ensaio *in-vitro* mostrou alterações no esperma humano quando expostos aos diferentes parabenos⁹⁰.

A relação existente entre os parabenos e o sistema reprodutor masculino foi objeto de um estudo epidemiológico. Para o efeito foram analisadas amostras de urina para a deteção do MeP, PrP e BuP, associando-se os resultados aos seguintes parâmetros: nível de hormonas no soro (n=167), qualidade do sémen (n=190) e alterações de DNA espermático (n=132). As taxas de deteção foram de 100% para o MeP, 92% para o PrP e, finalmente, de 32% para o BuP. Estatisticamente não se observaram associações significativas entre MeP ou PrP e doenças associadas. Relativamente aos níveis de hormonas no soro e à qualidade do sémen, não foram encontradas associações com o BuP, contudo, verificou-se uma associação positiva entre este e alterações no DNA espermático⁸⁶.

Os efeitos estrogénicos dos parabenos ao nível do sistema reprodutor feminino foram observados em mulheres expostas a estes compostos bem como o desenvolvimento de cancro da mama^{88,89}. Contudo, a ação dos ftalatos quando comparada com o 17 β -estradiol revela-se insignificante ou nula⁸⁷.

Hoje em dia, o uso de conservantes é imprescindível, principalmente na alimentação, onde os processos de conservação de produtos são extremamente utilizados de formas variadas. Deste modo, já há mais de oito décadas, usam-se compostos chamados de parabenos, que, para além de serem conhecidos os seus possíveis efeitos adversos, como cancro da mama, diminuição de parâmetros espermáticos, alterações do sistema reprodutor, entre outros, permanecem como os conservantes mais seguros e melhor tolerados para o humano. Daqui se depreende a importância evidente da investigação e desenvolvimento de novos estudos acerca destes desreguladores endócrinos, assim como, de compostos alternativos aos parabenos para uso como conservantes nos processos alimentícios.

Éteres Difenílicos Polibromados:

Descrição Geral:

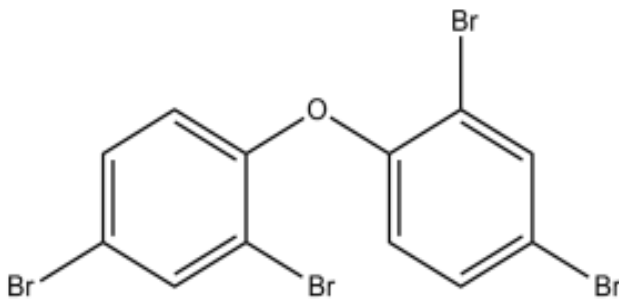


Figura nº6 – Estrutura química dos éteres difenílicos polibromados.

Os éteres difenílicos polibromados são compostos aromáticos bromados que apresentam elevada estabilidade química nas condições normais, sendo destruídos quando aquecidos¹.

Como são lipofílicos têm a capacidade de armazenar nos organismos ao longo da cadeia alimentar e, o seu grau de bioacumulação aumenta com a diminuição da quantidade de constituintes de bromo⁹⁴.

Os PBDEs são usados como retardadores da chama (“*flame-retardant*”), encontrados numa variedade de produtos de consumo como equipamentos eletrónicos, materiais de construção, tintas, malhas/tecidos, na espuma de poliuretano, usada no estofamento de mobiliário, entre outros⁹⁸. Nestes produtos, os PBDEs são difundidos nas matrizes poliméricas e as ligações existentes como não são covalentes permitem que ao longo do tempo possam difundir-se para o exterior. Desta forma, podem ser detetados em amostras de ar, como por exemplo, nos locais onde se efetua reciclagem de produtos (plásticos, materiais eletrónicos, entre outros), levando à contaminação por inalação⁹⁴.

Mas a maior fonte de exposição aos PBDEs é através da alimentação, pela ingestão de alimentos contaminados, principalmente aqueles com alto teor de gordura (como peixes gordos), onde estes compostos sofrem extensa bioacumulação⁹⁴.

Os PBDEs podem ainda ser encontrados em embalagens de produtos, como por exemplo no material que reveste as garrafas de água. Um estudo demonstra a existência destes compostos em água engarrafada salientando que a percentagem de migração destas substâncias polibromadas, depende, em certa parte, da natureza química do material que reveste as embalagens assim como dos componentes que estas armazenam. Este estudo foi realizado com embalagens de polietileno tereftalato (PET), policarbonato e poliestireno e nas respetivas águas. Os resultados obtidos no final de sessenta dias de armazenamento mostraram que o bromo encontrava-se em maior concentração nas garrafas com água CR (água carbonatada) e NCRE (água não carbonatada enriquecida com aditivos) e que, migraram em maior quantidade nas garrafas de PET⁹⁹.

O tempo de meia vida do PBDE no soro humano varia de semanas a meses, dependendo do indivíduo e, no tecido adiposo apresenta-se na ordem de vários anos. O melhor método de medição da exposição ao PBDE é a partir de amostras biológicas, apresentando-se como uma medida de exposição estável devido à sua persistência e propriedades de bioacumulação⁹⁷.

Por fim, os PBDEs são considerados poluentes orgânicos persistentes, visto que permanecem no ambiente durante anos sem alterações significativas²³. Desta feita, apesar de proibições ou da interrupção voluntária da produção de determinadas formulações comerciais com PDBE (na Europa e nos EUA), a população continua exposta a tais substâncias dada a sua elevada persistência⁹⁴. A exposição aos PBDEs pode levar a um conjunto de alterações no organismo humano e animal, visto que, estudos *in-vitro* têm demonstrado que os PBDEs têm a capacidade de se ligar aos receptores de estrogénio e induzir a transdução de sinal^{95,96}.

Estudos Epidemiológicos:

Os PBDEs podem causar um conjunto de doenças crônicas, que variam desde desordens cognitivas a disfunções de vários órgãos¹⁰⁰.

A concentração de PBDE na placenta, leite materno e em rapazes com e sem criptoquidismo foi comparada verificando-se que a concentração de PBDEs no leite materno mostrou ser muito superior em rapazes com criptoquidismo, relativamente ao grupo controlo. Verificou-se também uma correlação positiva entre a PBDE e a LH¹⁰¹.

Um aumento de cancro testicular em filhos de mulheres com percentagem de PBDEs maior ou igual a 75% foi reportado, estes casos são referentes a um período de elevada exposição a estes compostos. A diminuição da incidência de casos de cancro testicular nos últimos anos pode ser o reflexo do menor uso dos PBDEs¹⁰².

Por outro lado, a exposição aos PBDEs durante a gravidez também apresentou alterações no recém-nascido como a redução do peso, comprimento e a circunferência craniana e, ainda uma associação entre os níveis de PBDE e alterações do ciclo menstrual¹⁰³.

Efeito dos PBDEs no sistema hormonal da tiróide, como a ocorrência de hipotireoidismo tem sido confirmado em estudos *in-vitro* com roedores expostos no período neonatal ou no estado adulto^{49,50,91,92,105}. Está também comprovado, através de estudos em ratos, que os PBDEs podem provocar hipertireoidismo, assim como hepatotoxicidade⁵⁶.

Relativamente à possível acção que estes podem ter ao nível do sistema neurológico, estudos têm sido desenvolvidos que comprovam que ratos recém-nascidos expostos a uma dose única de PBDEs apresentam alterações no comportamento espontâneo (locomoção, criação e outras atividades), e ainda alterações consequentes na memória e aprendizagem em ratos adultos⁴⁷.

Mais uma vez, evidencia-se a existência de relações destes desreguladores endócrinos com o desenvolvimento de doenças reprodutivas, metabólicas e neurológicas, alterando fatores inerentes ao organismo humano. No entanto, a evidência e a não evidência dos efeitos torna necessário a realização de maior número de estudos de forma a consolidar todos estes conhecimentos.

Conclusão:

A população, em geral, pode disfrutar de uma alargada variedade de produtos de consumo produzidos a nível industrial, mas quando este ato não é acompanhado das devidas precauções leva a efeitos adversos, na saúde humana. Este facto pode ser particularmente importante no caso dos DE presentes em vários materiais de embalagens alimentares que, dadas as suas características físico - químicas podem migrar para a água/alimentos sobre determinadas condições ambientais e atuar como desreguladores endócrinos. Os seus efeitos podem fazer-se sentir de forma aditiva, sinérgica ou antagonista.

A exposição aos DEs ocorre de várias formas e em diferentes fases do desenvolvimento humano. Estes compostos têm capacidade de atravessar a placenta, acumular-se nos tecidos gordos, leite materno, apresentando-se como um fator de risco para os fetos/bebés aos quais é necessária atenção redobrada dada a sua maior vulnerabilidade.

Atualmente está provada a existência de associação destes compostos com alterações endócrinas e efeitos adversos no sistema reprodutor, contudo, o número de estudos humanos é muito limitado o que diminui as certezas em relação aos achados encontrados.

Assim, dado o caráter de saúde ambiental e de saúde humana envolvente torna-se imprescindível criar mais estudos epidemiológicos, assim como, base de dados para investigações globais de estudos de casos e controlo, e *cohort*, a partir das suas ferramentas analíticas e estatísticas e, a partir daqui definir uma redução da exposição. Torna-se necessário identificar os grupos de risco, as variáveis de exposição, os seus “*out-comes*” e medidas de prevenção de risco³⁷.

Para finalizar, não esquecendo o papel do Farmacêutico como agente de saúde pública este deve intervir ativamente no aconselhamento e dispensa de medicamentos ou produtos que não necessitem de prescrição médica sendo essencial um constante conhecimento e atualização das principais temáticas científicas da atualidade, como são os Desreguladores Endócrinos, por forma a poder informar ou elucidar o utente acerca das suas características, usos e consequências, pois não sendo largamente conhecidos pela sociedade estão largamente difundidos no ambiente que nos rodeia.

Bibliografia:

- ¹ Bergman, A., Heindel, J.J., Jobling, S., Kidd, K.A. & Zoeller, R.T. (alterado) State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012. OMS. UNEP.IOMC
- ² Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J.P., Giudice, L.C., Hauser, R., Prins, G.S., Soto, A.M., Zoeller, R.T. & Gore, A.C. Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society Scientific Statement. 2009. *Endocrine reviews*. **30(4)**, 293 - 342
- ³ Schönfelder, G., Wittfoht, W., Hopp, H., Talsness, C.E., Paul, M., Chadoud, I. Parent Bisphenol A accumulation in the human maternal-fetal-placenta. 2002. *Environmental Perspectives*. **110(11)**, A703-A707
- ⁴ vom Saal, F.S. & Hughes, C. An extensive new literature concerning low-dose effects of Bisphenol_A shows the need for a new risk assessment. 2005. *Environmental Health Perspectives*. **113(8)**, 926-933
- ⁵ Pocar, P., Brevini, T.A., Fisher, B. & Gandolfi, F. The impact of endocrine disruptor on oocyte competence. 2003. *Reproduction*. **125**, 313 – 325
- ⁶ Windham, G.C., Lee, D., Mitchell, P., Anderson, M., Petreas, M. & Lasley, B. Exposure to organochloride compounds and effects on ovarion functions. 2005. *Epidemiology*. **16**, 182 – 190
- ⁷ Fleming, L.E., Bean, J.A., Rudolph, M. & Hamilton, K. Cancer incidence in a cohort of licensed pesticide applicators in Florida. 1999. *Occup. Environ. Med.* **41**, 279 – 288
- ⁸ Toft, G., Hagmar, L., Giwercman, A. & Bonde, J.P. Epidemiological evidence on reproductive effects of persistent organochlorines in humans.2004. *Reprod. Toxicol.* **19**, 5 – 26
- ⁹ Toppari, J. & Skakkeback, N.E. Sexual differentiation and environmental endocrine disrupters. 1998. *Baillieres Clin. Endocrinol. Metab.* **12**, 143 – 156
- ¹⁰ Tilson, H.A. Developmental neurotoxicology of endocrine disruptors and pesticides: identification of information gaps and needs. 1998. *Environ. Health Perspect.* **106** (Suppl.3), 807 – 811
- ¹¹ Teilmann, G., Juul, A., Skakkeback, N.E. & Toppari, J. Putative effects of endocrine disrupters on pubertal development in the human. 2002. *Best pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **16**, 105 – 121
- ¹² Colborn, T. Neurodevelopment and endocrine disruption. 2004. *Environ. Health Perspect.* **112**, 944 – 9

- ¹³ Colborn, T. A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. 2006. *Environ. Health Perspect.* **114**, 10 – 7
- ¹⁴ Swan, S.H. et al. Decrease in anogenital distance among male infants with pre natal phthalate exposure. 2005. *Environ. Health Perspect.* **113**, 1056 - 61
- ¹⁵ Damgaard, I.N., Main, K.M., Toppari, J. & Skakkeback, N.E. Impact of exposure to endocrine disrupters in utero and in childhood on adult reproduction. 2002. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **16**, 289 – 309
- ¹⁶ Aksglaede, L., Juul, A. & Anderson, A.M. The sensitivity of the child to sex steroids: possible impact of exogenous estrogens. 2006. *Hum. Reprod. Update* **12**, 341 – 349
- ¹⁷ Main, K. M., Toppari, J. & Skakkeback, N.E. Gonadal development and reproductive hormones in infant boys. 2006. *European Journal of Endocrinology.* **155**, S51 – S57
- ¹⁸ Reys, L.L. Tóxicos ambientais desreguladores do sistema endócrino. 2001. *Revista da Faculdade de Medicina de Lisboa série III* **6(4)**; 213-225
- ¹⁹ Mendes, J.J.A. The endocrine disrupters: a major medical challenge. 2002. *Food and Chemical Toxicology.* **40**; 781-788
- ²⁰ Lange, I.G., Daxenberger, A., Schiffer, B., Witters, H., Ibarreta, D., Meyer, H.H.D. Sex hormones originating from different livestock production systems: fate and potential disrupting activity in the environment. 2002. *Analytica Chimica Acta.* **473**; 27-37
- ²¹ Shaw, I. & McCully, S. A review of the potential impact of dietary endocrine disrupters on the consumer. 2002. *International Journal of Food Science and Technology.* **37**; 471-476
- ²² Trevor, G.C., Elizabeth, N., Sigrid, von E., Jacques, A., Baker, H.W., Herman, M.B., Trin, B.H., Thinus, K., Christina, W., Michael T. M. & Kirsten, M.V. World Health Organization reference values for Human semen characteristics. 2010. *Human Reproductive Update.* Vol 16, No 3 pp. 231 – 245. Disponível em: http://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/cooper_et_al_hru.pdf
- ²³ Darnerud, P.O., Eriksen, G.S., Jóhannesson, T., Larsen, P.B. & Viluksela, M. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. 2001. *Environ. Health Perspect.* **109(1)**, 49 - 68
- ²⁴ Calafat, A.M., Ye, X., Wong, L.Y., Reidy, J.A. & Needham, L.L. Exposure of the U.S. population to bisfenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003 – 2004. 2008. *Environ. Health Perspect* **116(1)**, 39 – 44
- ²⁵ Vandenberg, L.N., Hauser, R., Marcus, M. & Welshons, W.V. Human exposure to Bisphenol A (BPA). 2007. *Reprod. Toxicol.* **24(2)**, 139 - 77

- ²⁶ Volkel, W., Bittner, N. and Dekant W. 2005. Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem massspectrometry. *Drug. Metab. Dispos.* **33**:1748–1757
- ²⁷ Volkel, W., Conlot, T., Csanady, G.A., Filser, J.G. & Dekant, W. Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. 2002. *Chem. Res, Toxicol.* **15(10)**, 1281 – 7
- ²⁸ Sugiura-Ogasawara, M., Ozaki, Y., Sonta, S., Makino, T. & Suzumori, K. Exposure to bisphenol A is associated with recorrente miscarriage. 2005. *Hum. Reprod.* **20**, 2325 – 2329
- ²⁹ Takeuchi T, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Takai Y, Taketani Y. Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. 2004. *Endocr J.* **51(2)**, 165 – 9
- ³⁰ Akingbemi, B., Sottas, C., Koulova, A., Klinefelter, G., & Hardy, M. Inhibition of testicular steroidogenesis by the xeno-estrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreasead steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cell. 2004. *Endroc.* **145(2)**, 592 – 603
- ³¹ Yamada, H., Furuta, I., Kato, E., Kataoka, S., Usuki, Y., Kobashi, G., Sata, F., Kishi, R. & Fujimoto, S. Maternal serum and amniotic fluid bisphenol A concentrations in the early second trimester. 2002. *Reprod. Toxicol.* **16(6)**, 735 – 739
- ³² Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saljo M, Kanamoto N, et al. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. 2002. *J Clin Endocrinol Metab.* ; **87(17)**, 5185–90
- ³³ Wetherill, Y.B., Petre, C.E., Monk, K.R., Puga, A. & Knudsen KE. The xenoestrogen bisphenol A induces inappropriate androgen receptor activation and mitogenesis in prostatic adenocarcinoma cells. 2002. *Mol. Cancer Ther.* **1(7)**, 515 – 24.
- ³⁴ Routledge, E., White, R., Parker, M. & Sumpter, J. Differential effects of xenoestrogens on coactivator recruitment by estrogen receptor (ER) alpha e ERbeta. 2000. *J Biol. Chem.* **275(46)**, 35986-93
- ³⁵ Duty, S.M., Calafat, A.M., Silva, M. J., Ryan, L. & Hauser, R. Personal care product use predicts urinary concentrations of some phthalate monoesters. 2005. *Environ. Health Perspect.* **113**, 1530 - 35
- ³⁶ Wittassek, M., Koch, H.M., Angerer, J & Bruning, T. Assessing exposure to phthalates - the human biomonitoring approach. 2011. *Mol. Nutr. Food Res.* **55(1)**, 7 – 31

- ³⁷ Andra, S.S. A perspective on Human exposure to Plastic Additives In Water-Packaging Materials. 2013. *Journal of Water Resource and Protection*. **5**, 25-33
- ³⁸ Kay, V.R., Chambers, C. & Foster, W.G. Reproductive and developmental effects of phthalate diesters in females. 2013. *Critic Rev Toxicol*. **43 (3)**, 200 – 19
- ³⁹ Gray, L.E., Ostby, J., Furr, J., Price, M. Veeramachaneni, D.N. & Parks, L. Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. 2000. *Toxicol Sci*. **58(2)**, 350-65
- ⁴⁰ Heindel, J. J., Gulati, D.K., Mounce, R.C., Russell, S.R. & Lamb, J.C. Reproductive toxicity of three phthalic acid esters in a continuous breeding protocol. 1989. *Fundam Appl Toxicol*. **12(3)**, 508-18
- ⁴¹ Mylchreest, E., Wallace, D.G., Cattley, R.C. & Foster, P.M. Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to Di(n-butyl) phthalate during late gestation. 2000. *Toxicol Sci*. **55(1)**, 143-51
- ⁴² Ema, M., Kurosaka, R., harazono, A., Amano, H. & Ogawa, Y. Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-n-butyl phthalate in rats. 1996c. *Arch Environ Contam Toxicol*. **31(2)**, 170-6
- ⁴³ Ema, M., Miyawaki, E. & Kawashima, K. Effects of dibutyl phthalate on reproductive function in pregnant and pseudopregnant rats. 2000. *Reprod Toxicol*. **14(1)**, 13-9
- ⁴⁴ Gray Jr, L.E., Wilson, V.S., Stoker, T., Lambright, C., Furr, J., Noriega, N., Hoedshell, K., Ankley, G.T. & Guillette, L. Adverse effects of environmental antiandrogens and androgens on reproductive development mamalians. 2006. *Int. J. Androl*. **29**, 96 – 104
- ⁴⁵ Meeker, J.D., Sathyanarayana, S. & Swan, S.H. Phthalates and other additives in plastics: human exposure and associated health outcomes. 2009. *Phil. Trans. R. Soc. B*. **364**, 2097 - 2113
- ⁴⁶ David, R.M., Mckee, R.H., Butala, J.H., Barter, R.A. & Kayser, M. Esters of aromatic mono-, di- and tricarboxylic acids, aromatic diacids, and di-, tri-, or polyalcohols.2001. In *Patty's toxicology*, pp. 635 – 932
- ⁴⁷ Eriksson, P., Jakobsson, E. & Fredriksson, A. Brominated flame retardants: a novel class of developmental neurotoxicants in our environment? 2001. *Environ. Health perspect*. **109(9)**, 903 – 8
- ⁴⁸ Hauser, R. & Calafat, A.M. Phtalates and human health.2005. *Occup. Environ. Med*. **62(11)**, 806 – 818
- ⁴⁹ Darnerub, P.O., Aune, M., Larsson, L. & Hallgren, S. Plasma PBDE and thyroxine levels in rats exposed to Bromkal or BDE-47. 2007. *Chemospehere*. **67(9)**, S386 - 92

- ⁵⁰ Richardson, V.M., Staskal, D.F., Ross, D.G., Diliberto, J.J., DeVito, M.J. & Birnbaum, L.S. Possible mechanisms of thyroid hormone disruption in mice by BDE 47, a major polybrominated diphenyl ether congener. 2008. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **226(3)**, 244-50
- ⁵¹ Hogberg, J. et al. Phthalate diesters and their metabolites in Human breast milk, blood or serum, and urine as biomarkers of exposure in vulnerable populations. 2008. *Environ. Health Perspect.* **116(3)**, 334 - 9
- ⁵² Koch, H.M. & Calafat, A.M. Human body burdens of chemicals used in plastic manufacture. 2009. *Philos. Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **364(1526)**, 2063-78
- ⁵³ NCR. Human biomonitoring for environmental chemicals. 2006. pp. 167 – 172. Washington, DC: National Research Council, National Academies Press.
- ⁵⁴ Directive 2005/84/EC of European Parliament and of the Council of 14 December 2005 Amending for the 22nd Time Council Directive 76/769/EEC on the Approximation of the Laws, Regulations and Administrative Provisions of the Member States Relating to Restrictions on the Marketing and Use of Certain Dangerous Substances and Preparations (Phthalates in Toys and Childcare Articles). Available online: <http://eur-ex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:344:0040:0043:en:PDG>.
- ⁵⁵ Chen, Xueping, Xu, S., Tan, T., Lee, S.T., Cheng, S.H., Lee, F.W.F., Xu, S.J.L. & Ho, K.C. Toxicity and Estrogenic Endocrine Disrupting Activity of Phthalates and Their Mixtures. 2014. *Environ. Res. Public Health.* **11(3)**, 3156 - 3168
- ⁵⁶ Lee, E., Kim, T.H., Choi, J.S., Nabanata, P., Kim, N.Y., Ahn, M.Y., Jung, K.K., Kang, I.H., Kim, T.S., Kwack, S.J., Park, K.L., Kim, S.H., Kang, T.S., Lee, J., Lee, B.M. & Kim, H.S. Evaluation of liver and thyroid toxicity in Sprague-Dawley rats after exposure to polybrominated diphenyl ether BDE-209. 2010. *J. Toxicol.* **35(4)**, 535 – 45
- ⁵⁷ Latini, G., De Felice, C., Presta, G., Del Vecchio, A., Paris, I., Ruggieri, F. & Mazzeo, P. In utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate and duration of human pregnancy. 2003. *Environ. Health Perspect.* **111 (14)**, 1783 - 1785
- ⁵⁸ Adibi, J.J., Hauser, R.W., Williams, P.L., Whyatt, R.M., Calafat, A.M., Nelson, H., Herrick, R. & Swan, S.H. Maternal urinary metabolites of Di-(2-Ethylhexyl)phthalate in relation to the timing of a labor in a US multicenter pregnancy cohort study. 2009. *Am. J. Epidemiol.* **169(8)**, 1015 - 24
- ⁵⁹ Main, K.M., Toppari, J. & Skakkeback, N.E. Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months age. 2006b. *Environ. Health Perspect.* **114(2)**, 270 – 276

- ⁶⁰ Hannas, B.R., Lambright, C.S., Furr, K., Howdeshell, K.L., Wilson, V.S & Gray, L.E. Dose-response assessment of fetal testosterone production and gene expression levels in rat testes following in utero exposure to diethylhexyl phthalate, diisobutyl phthalate, diisooheptyl phthalate and diisononyl phthalate. 2011. *Toxicological Sciences*. **123(1)**, 206 - 216
- ⁶¹ Macleod, D.J., Sharpe, R.M., Welsh, M., Fiskens, M., Scott, H.M., Hutchison, G.R., Drake, A.J. & van den Driesche, S. Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. 2010. *Int. J. Androl.* **33(2)**, 279 - 287
- ⁶² Swan, S.H. et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. 2005. *Environ. Health Perspect.* **113(8)**, 1056 - 61
- ⁶³ Colon, I., Caro, D., Bourdony, C.J. & Rosario, O. Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. 2000. *Environ. Health Perspect.* **108(9)**, 895 – 900
- ⁶⁴ Rozati, R., Reddy, P.P., Reddana, P. & Mujtaba, R. Role of Environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. 2002. *Fertil. Steril.* **78(6)**, 1187 – 94
- ⁶⁵ Duty S.M., Silva, M.J. Barr, D.B., Brock, J.W., Ryan, L., Chen, Z., Herrick, R.F., Christiani, D.C. & Hauser, R. Phthalate exposure and human semen parameters. 2003b. *Epidemiology* **14(3)**, 269 – 77
- ⁶⁶ Hauser, R., Meeker, J.D., Duty, S., Silva, M.J. & Calafat, A.M. Altered semen quality in relation to urinary concentration of phthalate monoester and oxidative metabolites. 2006. *Epidemiology* **17**, 682 – 691
- ⁶⁷ Duty, S.M., Calafat, A.M., Silva, M.J., Ryan, L. & Hauser, R. Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. 2005. *Hum. Reprod.* **20(3)**, 604 – 10.
- ⁶⁸ Roth, B., Herkenrath, P., Lehmann, H.J., Ohles, H.D., Homing, H.J., Benz-Bohm, G., Kreuder, J. & YounossiHartenstein, A. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate as plasticizer in PVC respiratory tubing systems: indications of hazardous effects on pulmonary function in mechanically ventilated, preterm infants. 1998. *Eur. J. Pediatr.* **147(1)**, 41 – 6
- ⁶⁹ Sthalbut, R.W., van Wijngaarden, E., Dye, T.D., Cook, S. & Swan, S.H. Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult U.S. males. 2007. *Environ. Health Perspect.* **115(6)**, 876 – 82
- ⁷⁰ Kym, Y., Ha, E.H., Kim, E.J., Park, H., Ha, M., Kim, J.H., Hong, Y.C., Chang, N. & Kim, B.N. Prenatal exposure to phthalates and infant development at 6 months: prospective Mothers and Children's Environmental Health (MOCEH) study. 2011. *Environ. Health Perspect.* **119 (10)**, 1495 - 500

- ⁷¹ Whyatt, R.M., Adibi, J.J., Calafat, A.M., Camann, D.E., Rauh, V., Bhat HK, Perera, F.P., Andrews, H., Just, A.C, Hopner, L, Tang, D. & Hauser, R. Prenatal di(2-ethylhexyl)phthalate exposure and length of gestation among an inner-city cohort. 2009. *Pediatrics*. **124(6)**, e1213 – 20
- ⁷² Huang, P.C., Kuo, P.L., Guo, Y.L., Liao, P.C. & Lee, C.C. Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. 2007. *Hum. Reprod.* **22(10)**, 2715 – 22
- ⁷³ Blount, B.C., Silva, M.J., Caudill, S.P., Needham, L.L. Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Lucier, G.W, Jackson R.J. & Broxk, J.W. Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. 2000. *Environ. Health Perspect.* **108(10)**, 979 - 82
- ⁷⁴ Calafat, A.M. & McKee. Integrating biomonitoring exposure data into the risk assessment process: phthalates [diethyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate] as a case study. 2006. *Environ. Health Perspect.* 2006. **114(11)**, 1783-9
- ⁷⁵ Sony, M.G., Carabin, I.G. & Bradock, B.A. Safety assessment of esters of p-hydroxibenzoic acids (parabens). 2005. *Food Chem. Toxicol.* **43(7)**, 985 – 1015
- ⁷⁶ Fernandes, J.P., Savino, G., Amarante, A.G., Sousa, M.R., Silva, G.R., Cianciulli, M.E., Corrêa, M.F. & Ferrarini, M. Estudo das relações entre estrutura e atividade dos parabens. 2013. *Quimica nova*. Vol. 36 nº6
- ⁷⁷ JECFA (união FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) Toxicol evaluation of Certain Food Additives. World Health organization Technical Report Series nº 539; FAO e WHO: Switzerland. 1974
- ⁷⁸ SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety). Clarification on opinion SCCS/1348/19 in the light of the Danish Clause of Safeguard Nabbing the Use of Parabens in Cosmetic Products Intended for Children under Three Years of Age. *European Commission*: Brussels, Belgium, 2011
- ⁷⁹ Liao, C., Liu, F., & Kannan K. Occurrence of an Dietary Exposure to Parabens in Foodstuffs from the United States. 2013. American Chemical Society. *Environ. Schi. Technol. Apr.* **47(8)**:3918-25
- ⁸⁰ Janjua N.R., Frederiksen, H., Skakkebaek, N., Wulf, H.C., Andersson, A.M. & Androl, J. Urinary excretion of phthalates and paraben after repeated whole-body topical application in humans. 2008. *Int. J. Androl.* **31(2)**, 118-30.
- ⁸¹ Smith, K.W., Braun, J.M., Williams, P.L., Ehrlich, S., Correia, K.F., Calafat, A.M., Ye, X., Ford, J., Keller, M., Mekker, J.D. & Hauser, R. Predictors and variability of urinary paraben

- concentrations in men and women, including before and during pregnancy. 2012. *Environ. Health Perspect.* **120**, 1538 – 1543
- ⁸² Calafat, A.M., Ye, X., Wong, L.Y., Bishop, A.M. & Needham, L.L. Urinary Concentrations of Four Parabens in the U.S. Population: NHANES 2005–2006. 2010. *Environ. Health Perspect.* 2010. **118(5)**, 679–685
- ⁸³ Routledge, E.J., Parker, J., Odum, J., Ashby, J. & Sumper, J.P. Some alkyl hidroxy benzoate preservativs (parabens) are estrogenic. 1998. *Toxic .Appl. Pharmacol.* **153**, 12 – 19
- ⁸⁴ Oishi, S. Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. 2002. *Arch Toxicol.* **76 (7)**, 423 - 9
- ⁸⁵ Oishi S. Effects of propyl paraben on the male reproductive system. 2002. *Food Chem.Toxicol.* **40**, 1807 – 1813
- ⁸⁶ Mekker, J.D., Yang, T., Ye, X., Calafat, A. & Hauser, R. Urinary Concentrations of Parabens and Serum Hormone Levels, Semen Quality Parameters, and Sperm DNA Damage. 2011. *Environ. Health Perspect.* **119 (2)**, 252 – 7
- ⁸⁷ Shaw, J. & deCatanzaro, D. Estrogenicity of parabens revisited: impact of parabens on early pregnancy and an uterotrophic assay in mice. 2009. *Reprod.Toxicol.* **28(1)**, 26 – 31
- ⁸⁸ Darbre, P.D., Aljarrah, A., Miller, W.R., Coldham, N.G., Sauer, M.J. & Pope, G.S. Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours. 2004. *J. Appl. Toxicol.* **24 (1)**, 5 - 13
- ⁸⁹ Golden, R., Gandy, J., Vollmer, G. A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. 2005. *Critic Review Toxic.* **35 (5)**, 435 – 58
- ⁹⁰ Song, B.L. & Peng, D.R. In vitro spermicidal activity of parabens against human spermatozoa. 1989. *Contraception.* **39 (3)**, 331 - 5
- ⁹¹ Tseng, L.H., Li, M.H., Tsai, S.S., Lee, C.W., Pan, M.H., Yao, W.J. & Hsu, P.C. Developmental exposure to decabromodiphenyl ether (PBDE 209): effects on thyroid hormone and hepatic enzyme activity in male mouse offspring. 2008. *PC Chemosphere.* **70(4)**, 640 – 7
- ⁹² Zhou, T., Ross, D.G., DeVito, M.J. & Crofton, K.M. Effects of short-term in vivo exposure to polybrominated diphenyl ethers on thyroid hormones and hepatic enzyme activities in weanling rats. 2001. *Toxicol. Sci.* **61(1)**, 76 - 82
- ⁹³ ATDSR Toxicological profile for di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP). 2002. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

- ⁹⁴ ATDSR Toxicological profile for polybrominated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers (PBBs and PBDEs). 2004. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry.
- ⁹⁵ Kojima, H., Takeuchi, S., Uramaru, N., Sugihara, K., Yoshida, T. & Kitamura, S. Nuclear hormone receptor activity of polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated and methoxylated metabolites in transactivation assays using Chinese hamster ovary cells. 2009. *Environ. Health Perspect.* **117(8)**, 1210-8
- ⁹⁶ Meerts, I.A., Letcher, R.J., Hoving, S., Marsh, G., Bergman, A., Lemmen, J.G., van der Burg, B. & Brouwer, A. In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PBDEs, and polybrominated bisphenol A compounds. 2001. *Environ. Health Perspect.* **109(4)**, 399 – 407
- ⁹⁷ Birnbaum, L.S. & Cohen, H.E. Polybrominated diphenyls ethers: a case study for using biomonitoring data to address risk assessment questions. 2006. *Environ. Health Respect.* **114(11)**, 1770 – 75
- ⁹⁸ Siddigi, M. A., Laessig, R.H. & Reed, K.D. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs): New Pollutants-Old Diseases. 2003. *Clin. Med. Res.* **1(4)**, 281 - 90
- ⁹⁹ Andra, S.S, Makris, K.C., Shine, J.P & Lu, C. CoLeaching of Brominated Coumpounds and Antimony from Bottled Water. 2012. *Environmental International.* **38(1)**, 45 - 53
- ¹⁰⁰ Darnerud, P.O., Eriksen, G.S., Jóhannesson, T., Larsen, P.B. & Viluksela, M. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure, and toxicology. *Environ. Health Perspect.* 2001. **109(1)**, 49 – 68
- ¹⁰¹ Main, K.M., Kiviranta, H., Virtanen, H.E., Sundqvist, E., Tuomisto, J.T., Tuomist, J., Vartiainen, T., Skakkeback, N.E. & Toppari, J. Flame retardants in placenta and breast milk and cryptorchidism in newborn boys. 2007. *Environ. Health Respect.* **115(10)**, 1519 - 26
- ¹⁰² Hardell, L., Bavel, B., Lindstrom, G., Eriksson, M & Carlberg, M. In utero exposure to persistent organic pollutants in relation to testicular cancer risk. 2006. *Int. J. Androl.* **29(1)**, 228 – 34
- ¹⁰³ Chao, H.R., Wang, S.L., Lee, W.J., Wang, Y.F. & Papke, O. Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from central Taiwan and their relation to infant birth outcome maternal menstruation effects. 2007. *Environ. Int.* **33(2)**, 239 – 45
- ¹⁰⁴ El Hussein, S., Muret, P., Berard, M., Makki, S. & Humbert, P. Assessment of principal parabens used in cosmetics after their passage through human epidermis-dermis layers (ex-vivo studys). 2007. *Environ. Health Perspect.* **16(10)**, 830 - 836

- ¹⁰⁵ Discroll, L.L, Gibson, A.M. & Hieb, A. Chronic postnatal DE-71 exposure: effects on learning, attention and thyroxine levels. 2009. *Neurotoxicol. Teratol.* 31 (2), 76 – 84
- ¹⁰⁶ Andersen, F.A. Final amended report on the safety assessment of methylparaben, ethylparaben, propylparaben, isopropylparaben, butylparaben, and benzylparaben as used in cosmetic products. 2008. *Int. J. Toxicol.* **27**, 1 - 82