



3o. Seminário Estadual de Toxicovigilância

Criança e Agrotóxico: O que sabemos?

Profa. Dra. Elaine Maria Frade Costa

**Prof. Livre-docente Disciplina de Endocrinologia e Metabologia FMUSP
Presidente da Comissão de Desreguladores Endócrinos da SBEM**

Contaminantes Orgânicos Emergentes (EOCs)

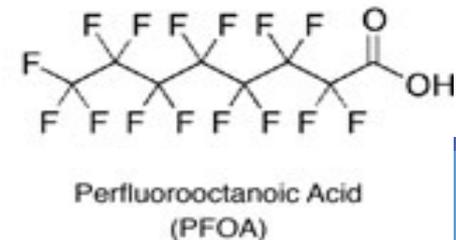
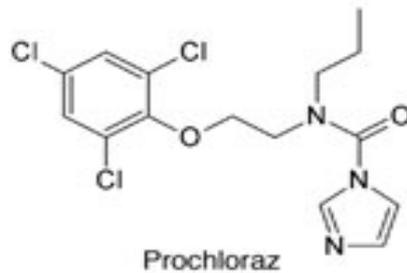
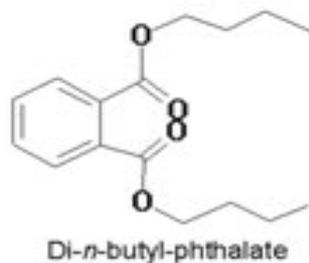
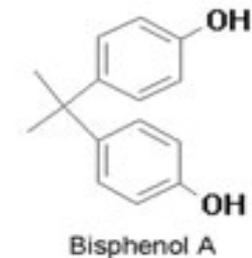
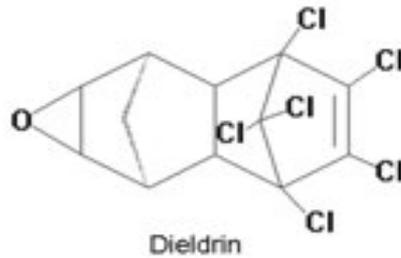
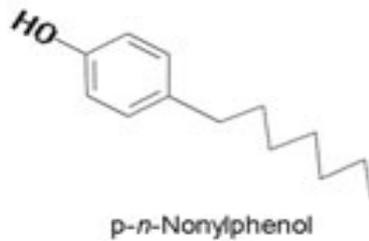
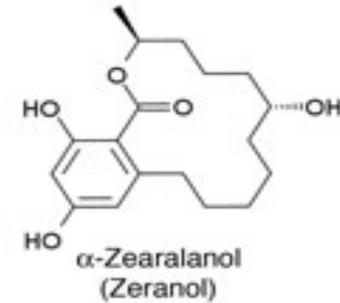
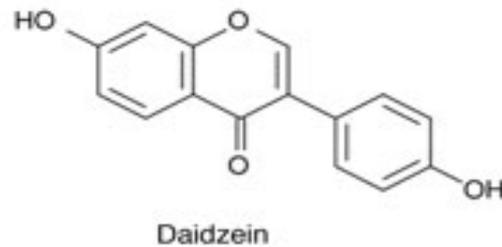
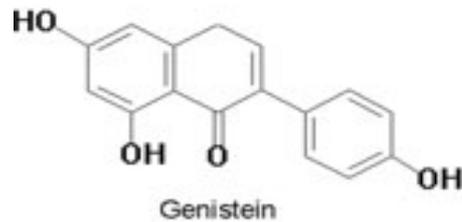
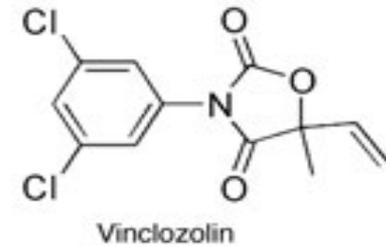
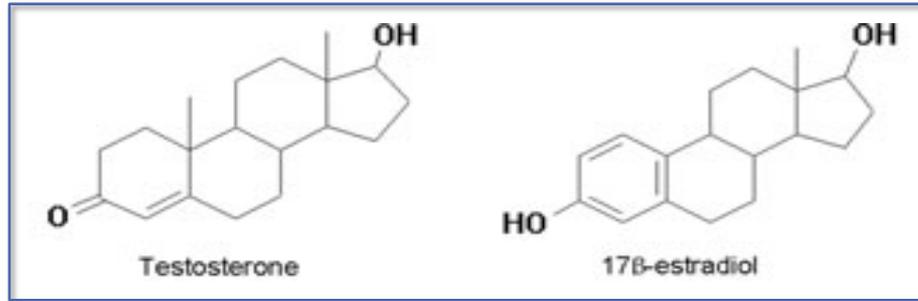


- Metais
- Medicamentos
- Produtos de cuidados pessoais
- Drogas ilícitas
- Suplementos alimentares e seus metabólitos
- Desreguladores endócrinos
- Novos EOCs tem sido identificados devido aos avanços dos métodos laboratoriais de análise.

Desreguladores Endócrinos: Definição

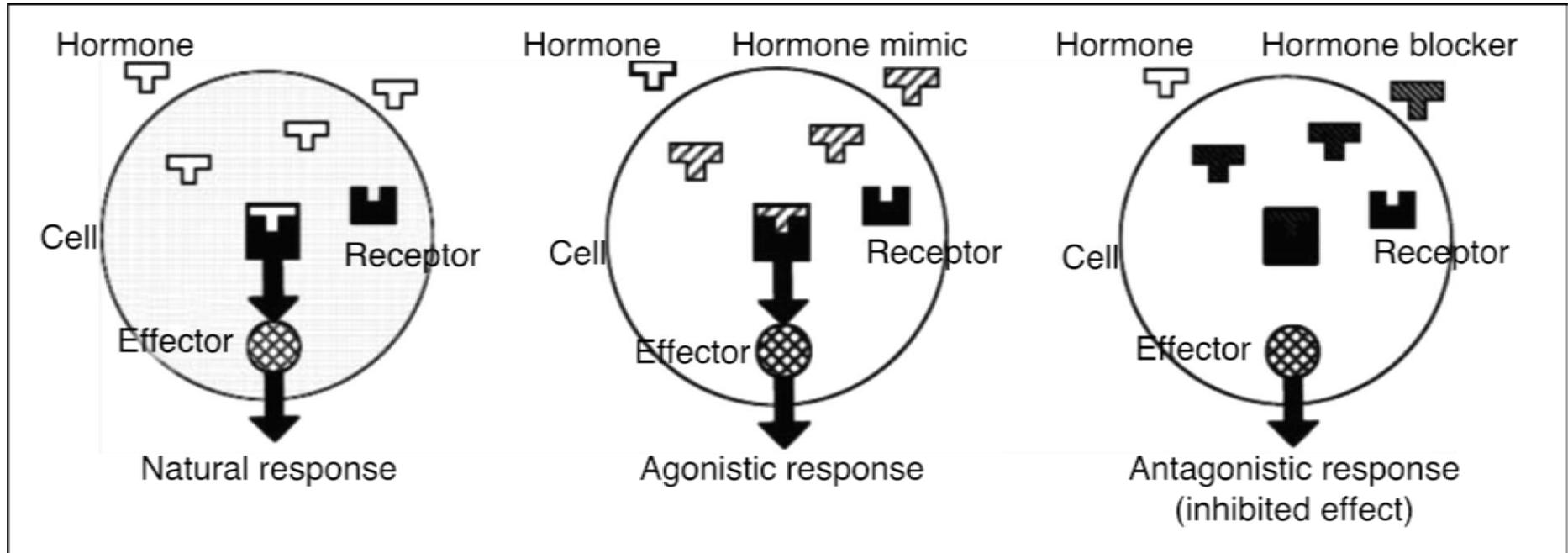
- Agente exógeno que interfere na síntese, secreção, transporte, metabolismo, ação ou eliminação de um ou mais hormônios naturais circulantes responsáveis pela homeostase, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos".

Estrutura Química dos Esteróides Sexuais e Diferentes Classes de DEs



Desreguladores Endócrinos

Mecanismo de Ação



Maioria dos DEs apresentam atividade estrogênica e/ou anti-androgênica

Desregulação Epigenética: Principal Mecanismo de Ação

Efeitos não genômicos (sem mutações)

- Fatores e processos que regulam a atividade do genoma independente da sequência de DNA
- Estável durante as mitoses.

Um agente ambiental modifica o processo de enovelamento da cromatina:

- Modificação das histonas (perda da interação DNA-proteína nuclear),
- Metilação do DNA (inibição da interação com fatores de transcrição).

Desreguladores Endócrinos: Origem

- Pesticidas (DDT/DDE e methoxychlor);
- Fungicidas (vinclozolin, procimidona, procloraz),
- Herbicidas (atrazine);
- Químicos industriais (PCBs , PBBs e dioxinas);
- Plásticos (ftalatos, BPA, alquilfenóis)
- Fitoestrógenos (genisteina e coumestrol)

➤ Fármacos (DES)

Skinner MK Reprod Toxicol, 2010

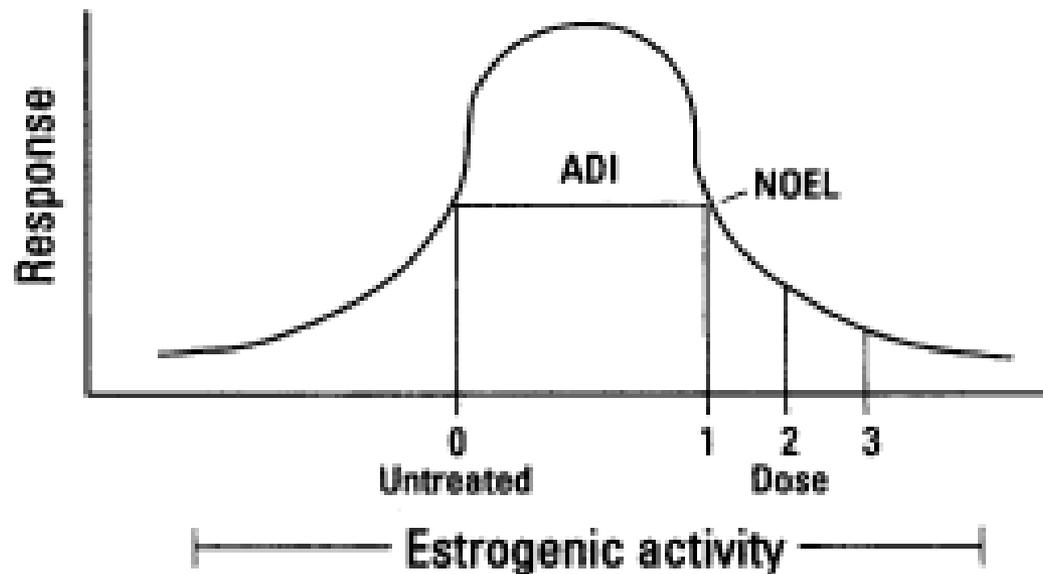
DEs: Principais Características

Curva dose-resposta não conventional =
"U" or "U invertido"

A importância das misturas =
"diferentes classes de Des podem ter efeitos sinérgicos ou aditivos"

Curva Dose-Resposta

- “A dose faz o veneno”
- EDCs possuem curva dose resposta não monotônica



DEs: Principais Características

Baixa solubilidade em água and alta solubilidade em lipídios



bioacumulação em tecido adiposo

Idade da exposição = “janela de suscetibilidade”

O período de latência a partir da exposição =
”doenças da idade adulta baseadas no desenvolvimento”

Janelas de Exposição

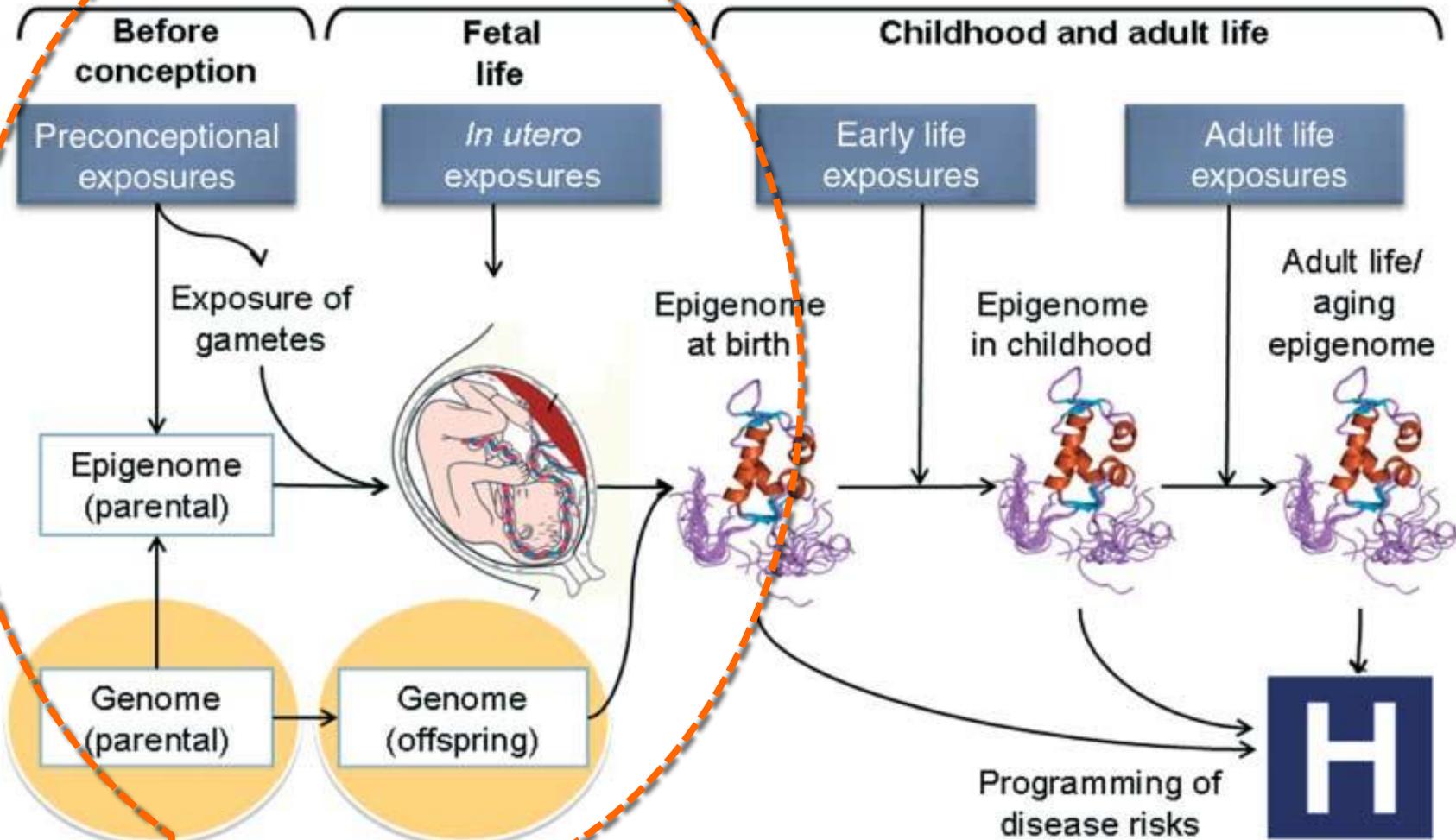


Figure 2 Exposures that occur preconceptionally, *in utero*, in early life and in adult life may result in epigenetic dysregulation.

Evidências do Impacto do Meio Ambiente na Prevalência de Doenças

- Diferenças regionais na frequência de doenças.
- Gêmeos idênticos com diferentes frequências de doenças.
- Frequência baixa de alterações genéticas em doenças como câncer mama e próstata, diabetes e obesidade.

Tendência Secular das Alterações do Sistema Reprodutivo em Humanos

Declínio das taxas de concepção

- USA: declínio de 44% desde 1960

Aumento das taxas de doenças da puberdade ou adultas jovens (SOP, endometriose)



Impacto negativo de fatores ambientais no sistema reprodutor feminino

Contaminação Humana



Desreguladores Endócrinos

Efeitos na Obesidade

Obesidade e Sobrepeso

Prevalência na População Americana



Controle do Peso



Consumo calórico

Gasto de energia

Teoria dos Obesógenos

- A exposição aos DEs durante o desenvolvimento contribui para adipogênese e obesidade.
- Ftalatos estão relacionados com ganho de peso (RE, RG e PPARgama)
 - Causam hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos
 - Atuam no balanço de energia, modificando:
 - estoque de gordura
 - queima de energia no repouso
 - sinalização da fome e saciedade

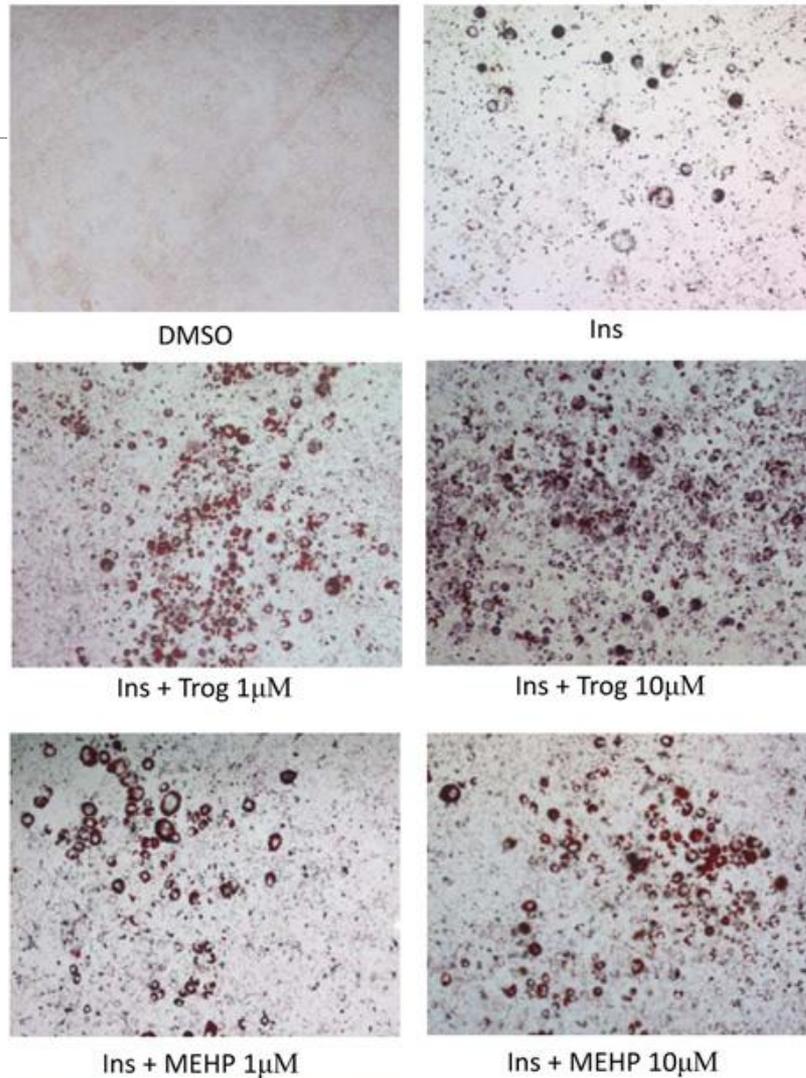
Ftalatos

- São usados para dar flexibilidade ao PVC
- Em shampoos, cosméticos, sabões, lubrificantes, pesticidas
- Exposição humana: principalmente através da alimentação
- DEHP é rapidamente metabolizado para MEHP, um modulador do PPAR γ

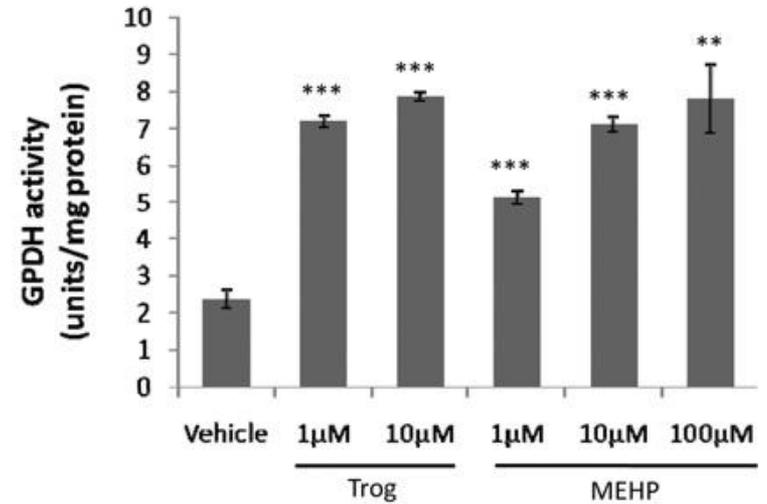
Células 3T3-L1

Ação do MEHP na Diferenciação de Adipócitos

A

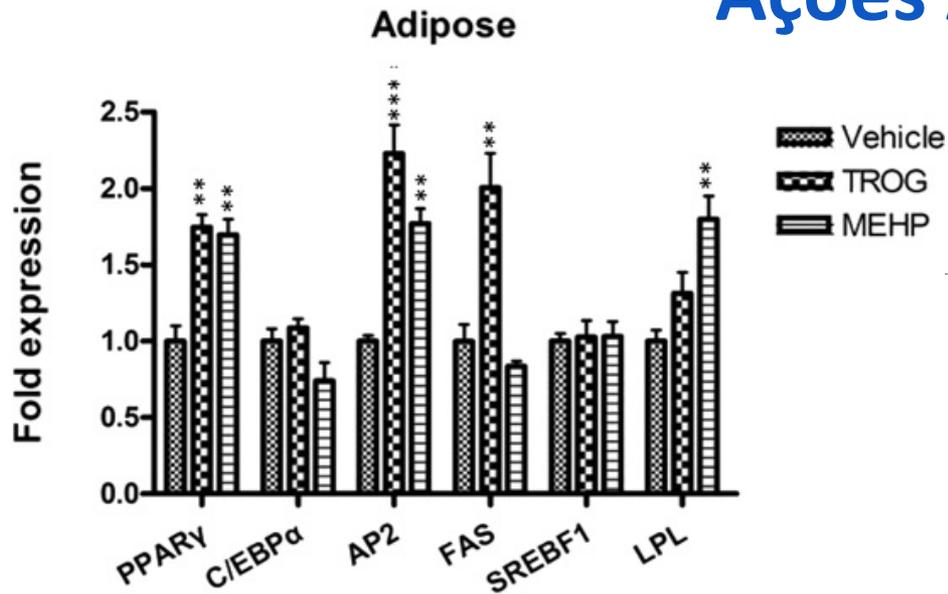


B

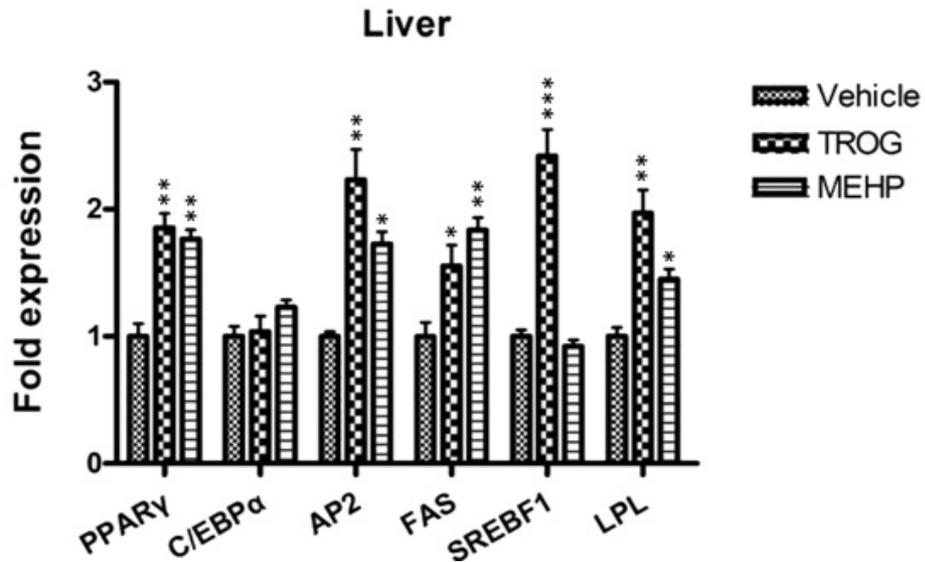


Ações Adipogênicas do MEHP

A



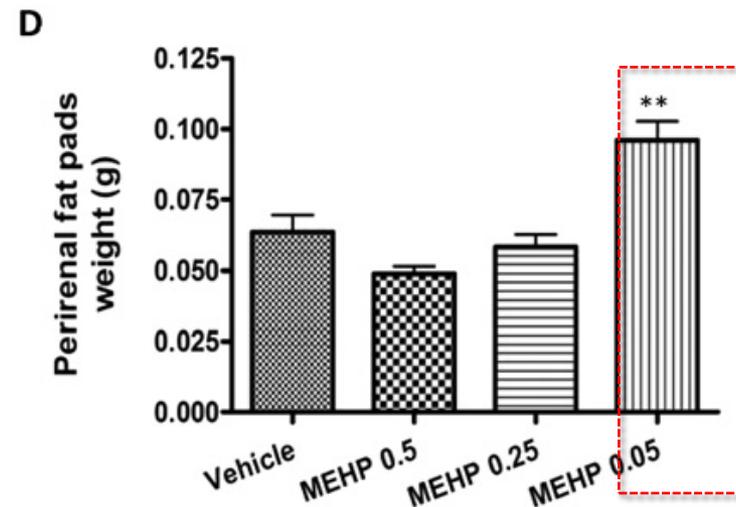
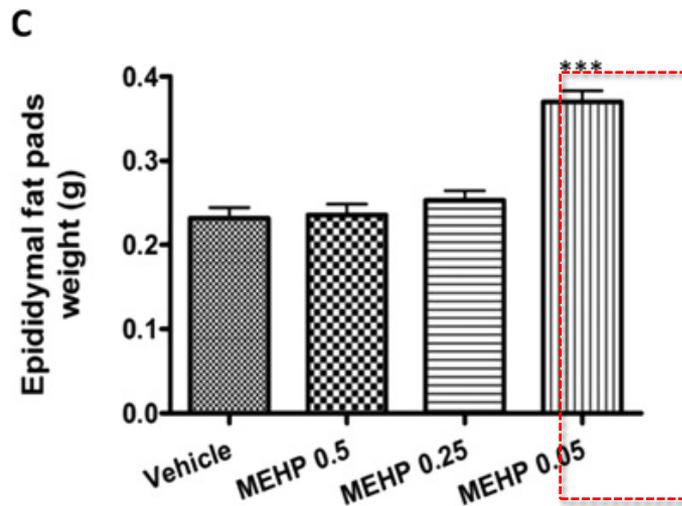
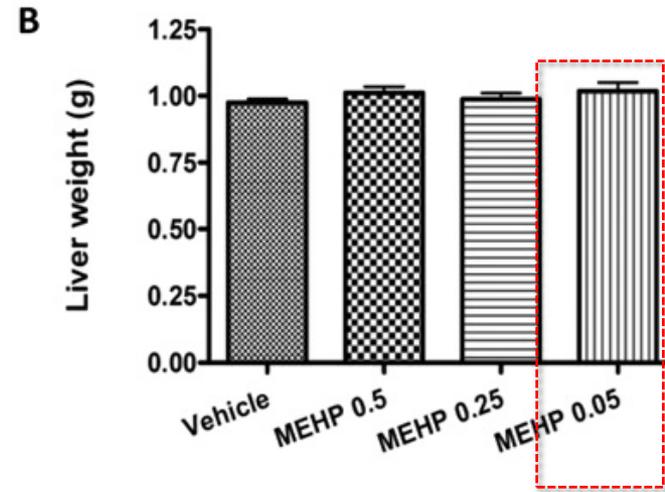
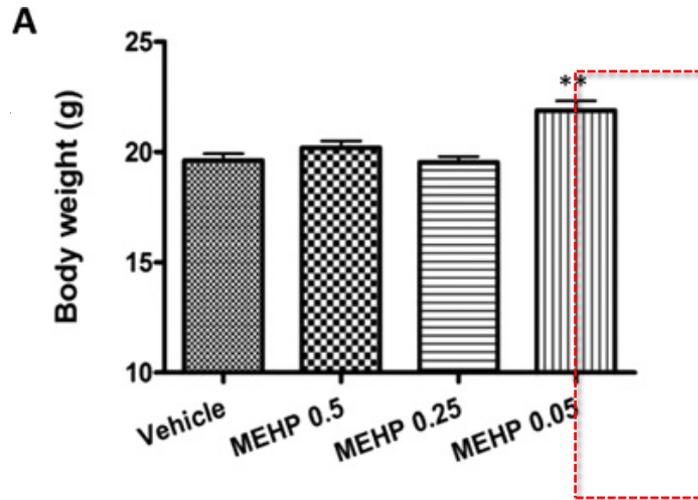
B



Camundongos adultos
expostos ao MEHP na vida
fetal

Exposição Fetal ao MEHP

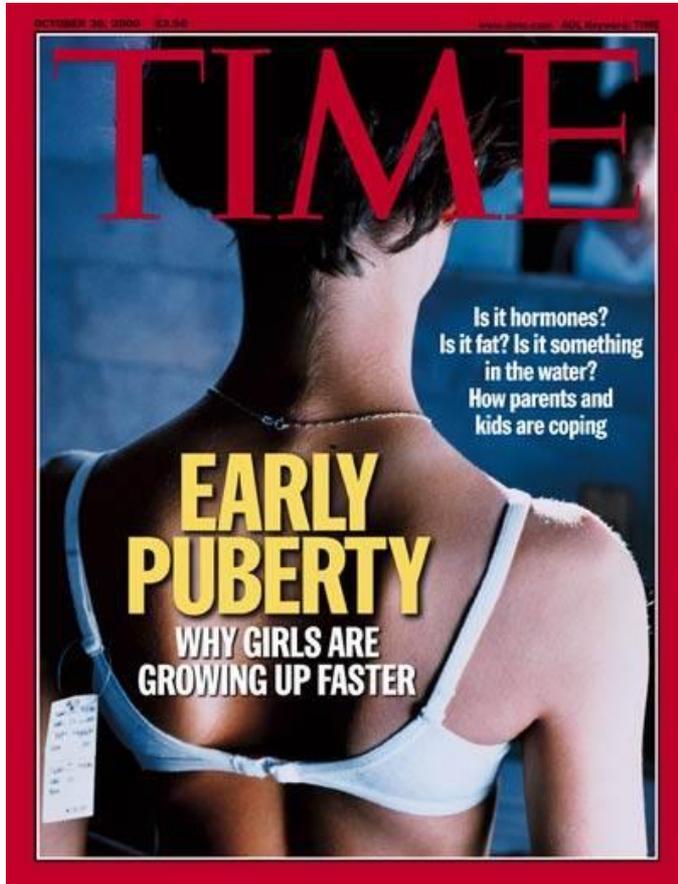
Repercussões Clínicas em Camundongos Adultos



Desreguladores Endócrinos

Efeitos no Desenvolvimento Puberal

Desenvolvimento Secular da Puberdade



As meninas americanas estão iniciando o desenvolvimento puberal aos 9 anos e meio, aproximadamente 1 ano mais cedo do que a geração anterior.

Desenvolvimento Secular da Puberdade: Dados de Populações Americanas

Study	Girls (age in years)									Boys (age in years)					
	B2			PH2			Menarche			G2			PH2		
	W	B	M	W	B	M	W	B	M	W	B	M	W	B	M
1948 (Reynolds & Wines, 1948)	10.8			11.0			12.9			11.5			12.2		
1953 (Nicolson & Hanley)	10.6			11.6			12.8			11.8					
NHES, 1963–1970 (MacMahon B., 1973)							12.8 12.5								
1969–1974 (Lee, 1980)	11.2			11.9			13.3			11.9			12.3		
Bogalusa, 1973–1974 (Foster <i>et al.</i> , 1977)	10.4	10.2		10.9	10.1		12.7	12.8		11.8	11.2		12.5	11.7	
PROS, 1992–1993 (Herman-Giddens <i>et al.</i> , 1997)	10.0	8.9		10.5	8.8		12.9	12.2							
NHANES III, 1988–1994 (Sun <i>et al.</i> , 2002)	10.4	9.5	9.8	10.6	9.4					10.0	9.2	10.3	12.0	11.2	12.3
NHANES III, 1988–1994 (Wu <i>et al.</i> , 2002)	10.3	9.5	9.7	10.6	9.5	10.3	12.6	12.2	12.2						
1995 (Biro <i>et al.</i> , 1995)										–			12.8		
NHANES III, 1988–1994 (Herman-Giddens <i>et al.</i> , 2001)										10.1			9.5 10.4 12.0 11.2 12.3		

Desenvolvimento Secular da Puberdade: Dados de Populações Europeias

Study	Girls (age in years)			Boys (age in years)		
	B2	PH2	Menarche	G2	PH2	TV > 3 mL
The Netherlands, 1965 (Mul <i>et al.</i> , 2001)	11.0	11.4 ^a	13.4	11.0	11.8 ^a	12.0
Denmark (Andersen, 1968)	10.6	11.6			12.8	
United Kingdom, 1969 (Marshall & Tanner, 1969, 1970)	11.2	11.7	13.5	11.6		
Switzerland, 1954–1980 (Largo & Prader, 1983a,b)	10.9	10.4	13.4	11.2	12.2	
Sweden, 1980 (Lindgren, 1996)	10.8	11.2		11.6	12.7	
Denmark, 1991–1993 (Juul <i>et al.</i> , 2006)	10.9	11.3	13.4	11.8	11.9	11.9
The Netherlands, 1997 (Fredriks <i>et al.</i> , 2000; Mul <i>et al.</i> , 2001)	10.7	11.0	13.2	11.5	11.7	11.5
Italy (De Simone <i>et al.</i> , 2004)				11.2	11.5	
Italy (Castellino <i>et al.</i> , 2005)	10.3	10.4		11.1	11.3	11.2
Turkey (Semiz <i>et al.</i> , 2008)	10.2	10.6	12.4			
Denmark, 2006–2008 (Aksøglæde <i>et al.</i> , 2009)	9.9	11.1	13.1			
Denmark, 2006–2008 (Sørensen <i>et al.</i> 2010)				11.6	12.4	11.6

Table 3 Examples of environmental endocrine-disrupting chemicals grouped according to their assumed actions (non-human studies)

Action	Compound
Oestrogenic	<i>Genistein, Daidzein</i> (Zand <i>et al.</i> , 2000; Thomsen <i>et al.</i> , 2006) <i>PCB</i> (Pereira & Rao, 2007) <i>Bisphenol A</i> (Doods & Lawson, 1936; Jorgensen <i>et al.</i> , 2000) <u><i>Endosulphan</i> (Jorgensen <i>et al.</i>, 2000)</u> <i>Zeranol</i> (Leffers <i>et al.</i> , 2001) <i>Brominated flame retardants</i> (BFR; Meerts <i>et al.</i> , 2001; Legler, 2008) <i>Diethylstilboestrol</i> (McLachlan <i>et al.</i> , 2001) <i>UV filters</i> (Schlumpf <i>et al.</i> , 2001, 2008)
Anti-oestrogenic	<i>PCBs</i> (Cooke <i>et al.</i> , 2001) <u><i>Prochloraz</i> (Vinggaard <i>et al.</i>, 2002)</u>
Androgenic	<i>Trenbolone</i> (Henricks <i>et al.</i> , 2001)
Anti-androgenic	<u><i>Vinclizolin</i> (Gray <i>et al.</i>, 1999a;</u> <i>Eustache</i> <i>et al.</i> , 2009) <u><i>DDE</i> (Keke <i>et al.</i>, 1995; Gray <i>et al.</i>, 1999b)</u> <i>Dioxin</i> (Gray <i>et al.</i> , 1997) <i>Phthalates</i> (Wilson <i>et al.</i> , 2008) <i>BFR</i> (Stoker <i>et al.</i> , 2005)
Gestagenic	<i>Melengestrol acetate</i> (Patterson <i>et al.</i> , 1989)
Anti-thyroid	<i>Phthalates</i> (O'Connor <i>et al.</i> , 2002; Sugiyama <i>et al.</i> , 2005) <i>PCB</i> (Hallgren & Darnerud, 2002; Gu <i>et al.</i> , 2009) <i>BFR</i> (Hallgren & Darnerud, 2002; Legler, 2008) <i>Dioxin</i> (Butenhoff <i>et al.</i> , 2006; Zoeller, 2007) The effect of EDCs on thyroid function in general is summarized in Boas <i>et al.</i> (2006)
Aromatase-inhibiting	<i>Phyto-oestrogens</i> (except genistein; Almstrup <i>et al.</i> , 2002) <i>Tributyltin</i> (TBT; Oehlmann <i>et al.</i> , 2007) <u><i>Prochloraz</i> (Vinggaard <i>et al.</i>, 2002)</u>
Interfering with steroid synthesis	<u><i>Prochloraz</i> (Vinggaard <i>et al.</i>, 2002)</u> <i>PFOA</i> (Biegel <i>et al.</i> , 1995) <i>Parabens</i> (Taxvig <i>et al.</i> , 2008) <i>Dibutylphthalate</i> (Thompson <i>et al.</i> , 2004) <i>DEHP</i> (Gunnarsson <i>et al.</i> , 2008; Chauvigne <i>et al.</i> , 2009)

National Health and Nutrition Examination Survey 2003

Bisfenol A e Obesidade em Crianças - 6 a 19 anos

Table 1. Study Population Characteristics in Urinary Bisphenol A Quartiles in Pooled 2003-2008 NHANES (N = 2838)

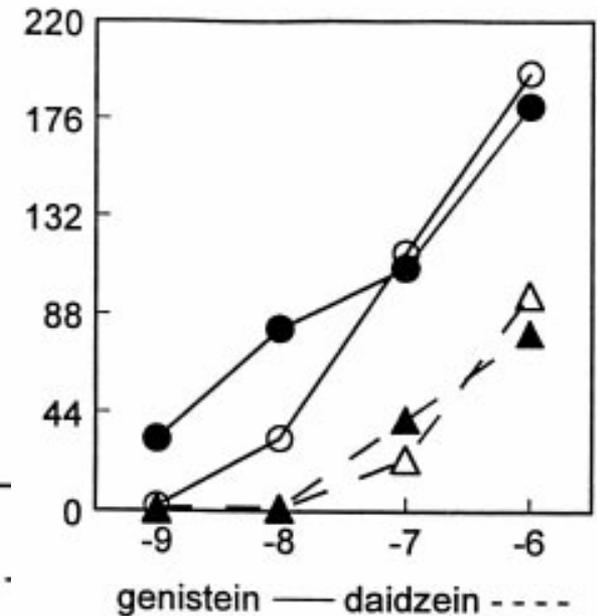
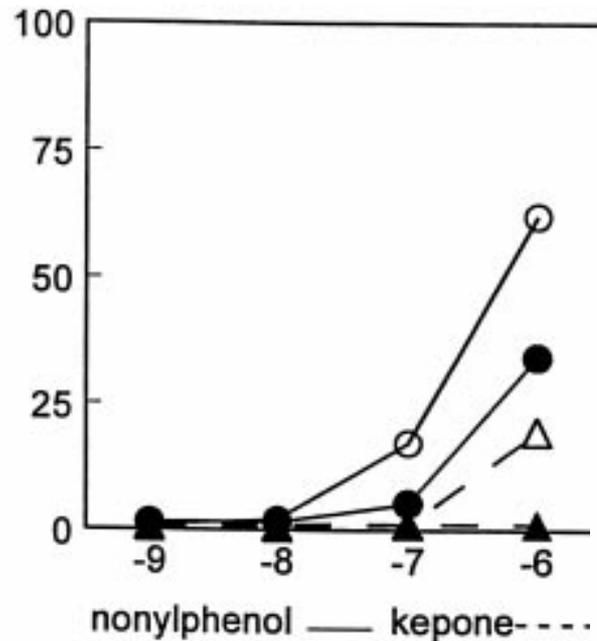
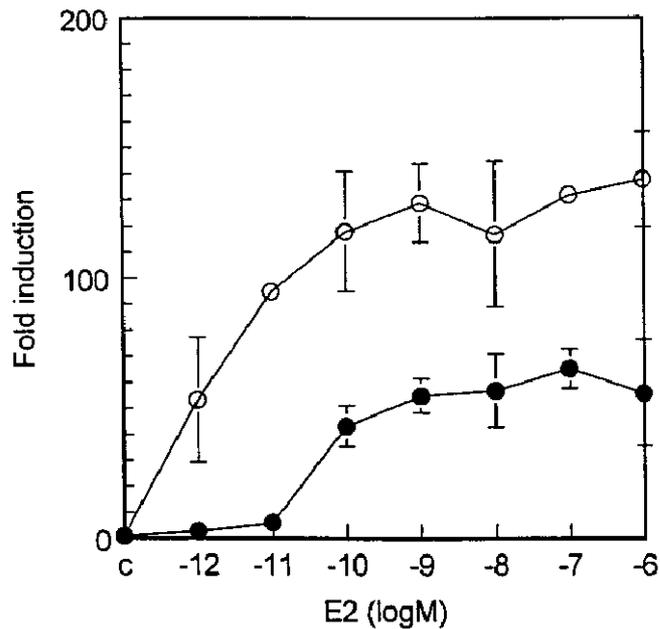
Characteristic	All		Urinary Bisphenol A Concentration Quartile, % (SE) ^a				P Value ^c
	No.	% (SE) ^b	1 (n = 685)	2 (n = 700)	3 (n = 737)	4 (n = 716)	
Sex							
Female	1374	48.7 (1.3) ^d	48.9 (2.5)	50.9 (2.5)	47.0 (3.2)	47.3 (2.5)	.74
Male	1464	51.3 (1.3)	51.1 (2.5)	49.1 (2.5)	53.0 (3.2)	52.7 (2.5)	
Age group, y							
6-11	1059	42.0 (1.3)	42.1 (2.1)	40.7 (2.3)	43.7 (2.7)	42.2 (2.5)	.84
12-19	1779	58.0 (1.3)	57.9 (2.1)	59.3 (2.3)	56.3 (2.7)	57.8 (2.5)	
Race/ethnicity							
Hispanic–Mexican American	850	12.2 (1.3)	16.3 (1.9)	13.8 (1.6)	10.4 (1.5)	9.0 (1.3)	<.001
Hispanic–other Hispanic	162	4.6 (0.9)	5.2 (1.4)	6.3 (1.3)	4.1 (1.3)	2.9 (0.9)	
Non-Hispanic white	789	62.0 (2.5)	59.4 (3.4)	60.7 (2.7)	64.7 (3.6)	62.3 (3.1)	
Non-Hispanic black	903	14.9 (1.4)	10.9 (1.7)	13.6 (1.6)	16.9 (2.0)	18.5 (2.1)	
Other	134	6.3 (0.9)	8.1 (1.7)	5.5 (1.2)	3.9 (1.0)	7.2 (1.5)	
Television watching, h/d							
<2	744	35.2 (1.4)	38.7 (2.7)	32.4 (2.7)	33.5 (2.4)	36.8 (2.9)	.30
≥2	1599	64.8 (1.4)	61.3 (2.7)	67.6 (2.7)	66.5 (2.4)	63.2 (2.9)	
Caloric intake vs active child of same age and sex ^e							
>USDA cut point	802	29.7 (1.3)	30.7 (2.5)	31.2 (2.6)	30.3 (2.1)	26.1 (2.0)	.34
≤USDA cut point	1898	70.3 (1.3)	69.3 (2.5)	68.8 (2.6)	69.7 (2.1)	73.9 (2.0)	
Overweight							
No	1769	65.9 (1.5)	71.5 (2.2)	65.7 (2.7)	63.4 (2.6)	63.5 (2.9)	.08
Yes	1047	34.1 (1.5)	28.5 (2.3)	34.3 (2.7)	36.6 (2.6)	36.5 (2.9)	
Obese							
No	2226	82.2 (1.3)	90.2 (1.2)	80.1 (2.5)	80.9 (2.1)	77.5 (2.5)	<.001
Yes	590	17.8 (1.3)	9.8 (1.2)	19.9 (2.5)	19.1 (2.1)	22.5 (2.5)	

Bisfenol A

- Um dos químicos de maior produção mundial, 10 bilhões de toneladas/2011.
- Utilização em plásticos com policarbonato, selantes dentários, resina epóxi e PVC.
- Identificado em amostras de 93% dos americanos.
- Principal via de contaminação: cadeia alimentar.

Mecanismo de Ação

Ligação aos receptores de estrógenos (α e β)
mimetizando as ações estrogênicas



Água para consumo humano e mananciais de São Paulo estão contaminados com estrógenos



400 amostras (UNICAMP, CETESB, Univ. Tennessee)

- Rios Sorocaba, Cotia (pior situação), Atibaia, Reservatório Tanque Grande

83% das amostras: elevada atividade estrogênica

- Estrona, estradiol, estriol, etinilestradiol, BPA, fitoestrógenos, etc

Contaminação da Água de Abastecimento com Atrazine

- Apesar do Atrazine ter sido banido pela União Européia desde 2004, ela e seus produtos foram encontrados na maioria das amostras de água dos mananciais e também da água de beber de Luxemburgo
 - Sugere uma longa persistência desse produto no solo e na água
- Prudente continuar medindo os pesticidas, seus produtos de degradação e sua ingestão, especialmente em grávidas e crianças.

Análise de DEs no Soro e Tecido Adiposo de 1042 Meninas

Pesticides	Group 1 (n=45) TP		Group 2 (n=16) PP		Prép. Group 3 (n=33)
	Serum levels (mg/L)	Adipose tissue (mg/kg)	Serum levels (mg/L)	Adipose tissue (mg/kg)	Serum levels (mg/L)
Endosulfan alpha	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected
Endosulfan beta	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected
Endosulfan sulfate	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected
Methoxychlor	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected
Vinclozolin	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected
4,4'-DDE	0.07 (n=1)	0.129±0.134 (n=2)	Undetected	0.129±0.134 (n=3)	0.006±0.016 (n=9)
4,4'-DDT	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected
2,4'-DDT	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected	Undetected

DDE dichlorodipenyldichloroethylene, *DDT* dichlorodiphenyltrichloroethane

Análise de Pesticidas em 1042 Meninas Escolares

Table 3 Age, body weight, height, and body mass index score of the patients

	TP Group 1 (n=45)	PP Group 2 (n=16)	Prép. Group 3 (n=33)
Age (\pm SD)	6.71 \pm 0.84	7.33 \pm 1.01 ^a	6.25 \pm 1.32
Weight SDS (\pm SD)	1.34 \pm 1.51 ²	1.11 \pm 0.95 ^b	-0.27 \pm 0.71
Height SDS (\pm SD)	0.71 \pm 1.02 ^b	0.83 \pm 0.68 ^b	-0.18 \pm 0.75
BMI SDS (\pm SD)	1.03 \pm 1.18 ^b	0.86 \pm 1.19 ^b	-0.11 \pm 0.74

SD standard deviation, *SDS* standard deviation score, *BMI* body mass index

^a The mean age of the girls in group 2 was significantly higher than the mean age of girls in group 3 ($p < 0.05$)

^b Weight, height, and BMI SDS of groups 1 and 2 were significantly higher than the corresponding values of group 3 ($p < 0.05$)

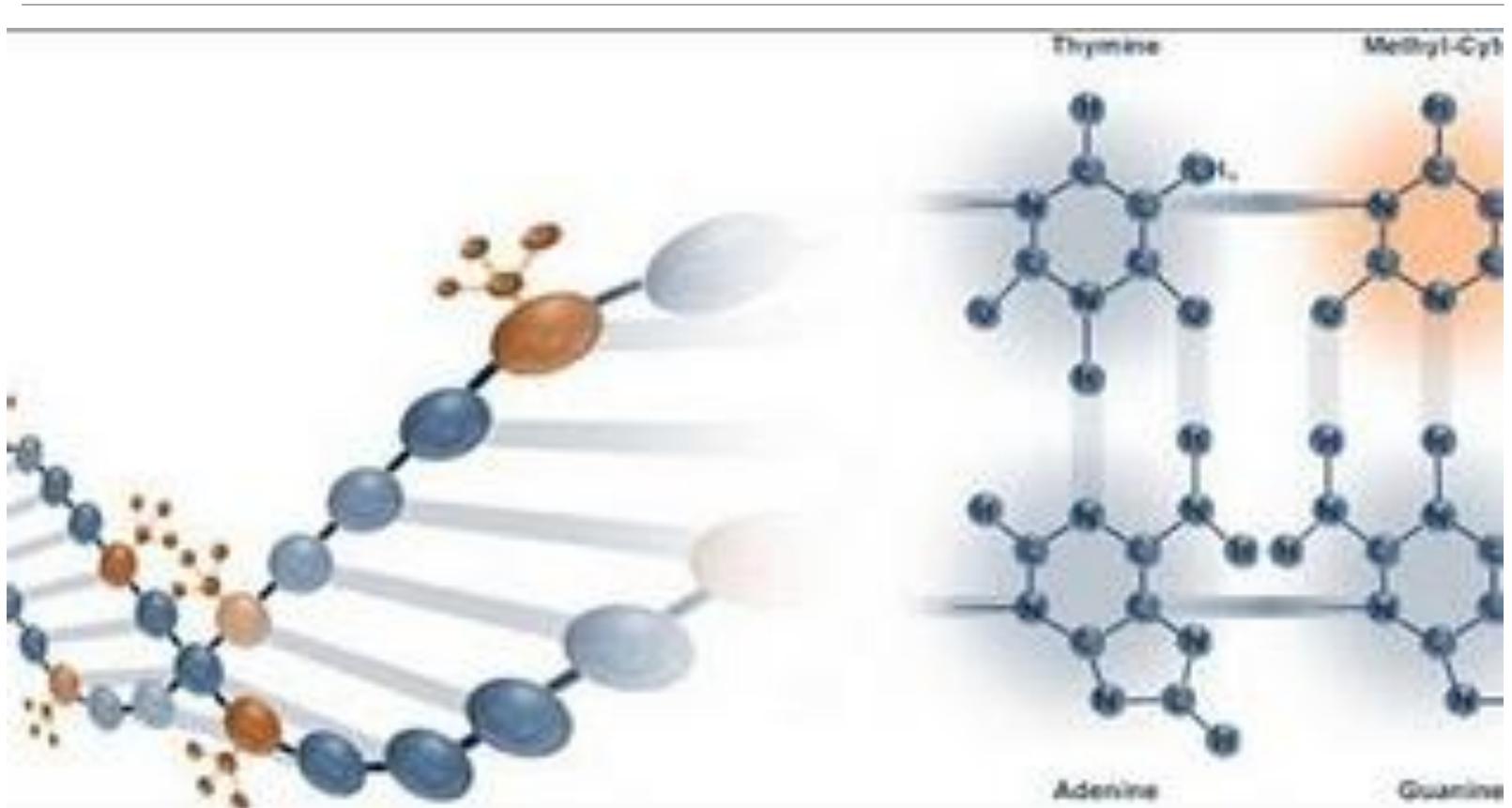
Dosagens de pesticidas no soro e no tecido adiposo não se correlacionaram com puberdade precoce, mas com o peso

Exposição aos Desreguladores Endócrinos

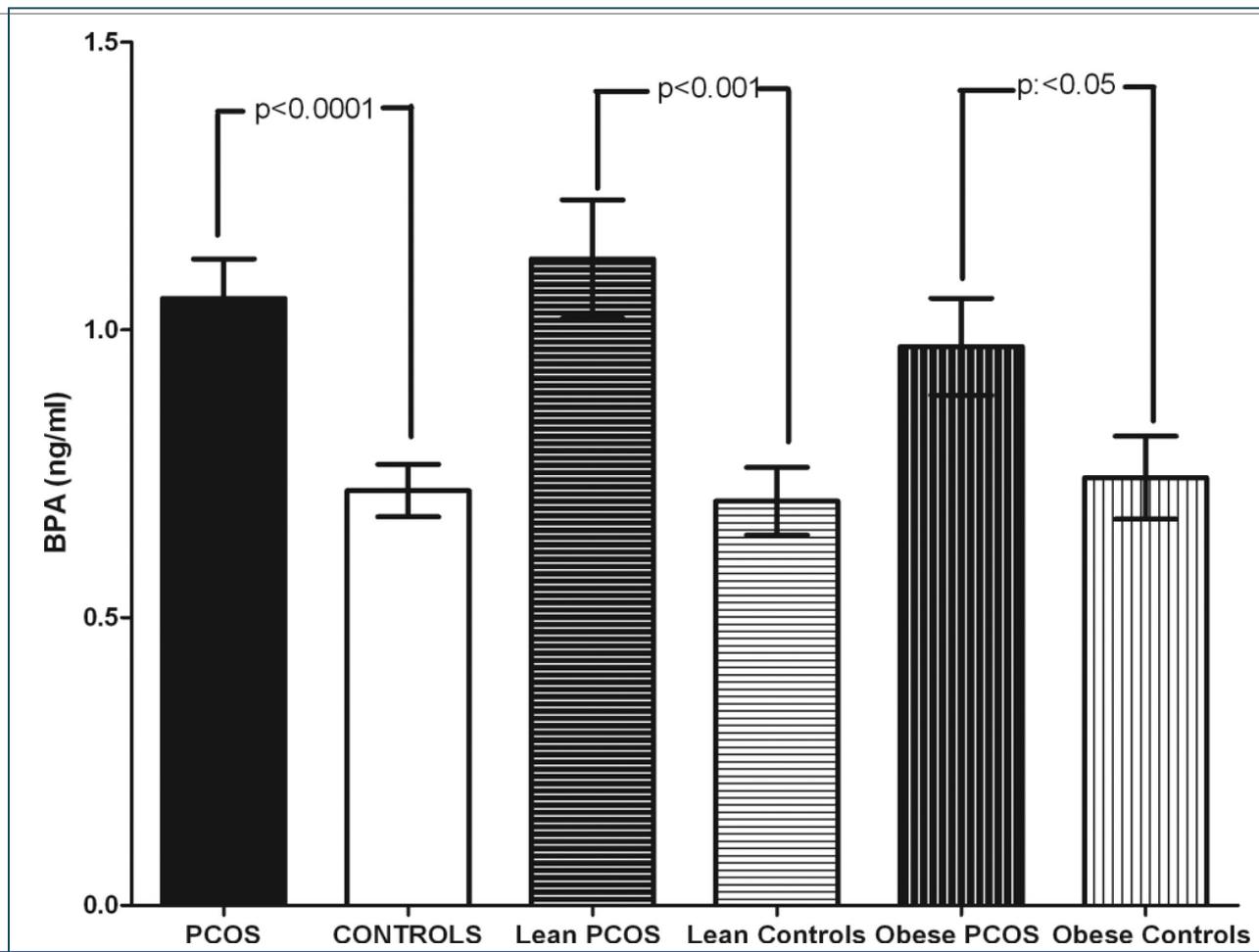
Consequências Tardias

Efeito Transgeracional

Metilação das Ilhas CpG

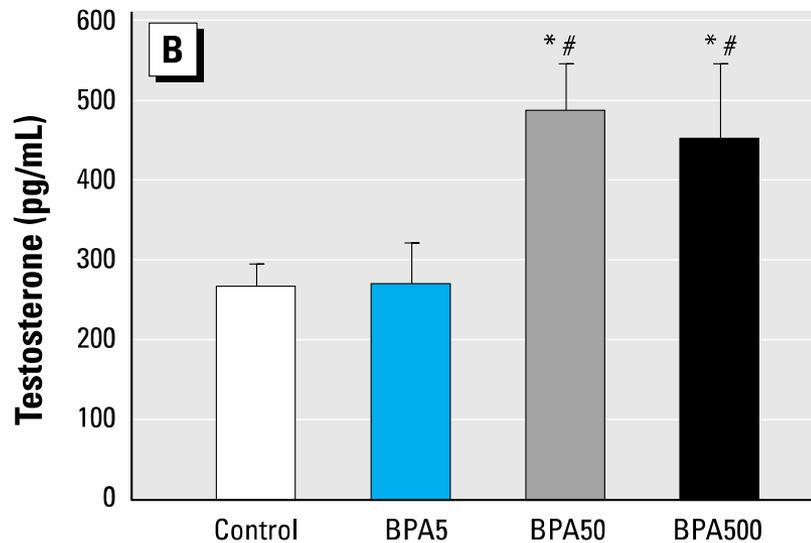


Concentrações de Bisfenol A em Pacientes com PCOS *versus* Controles

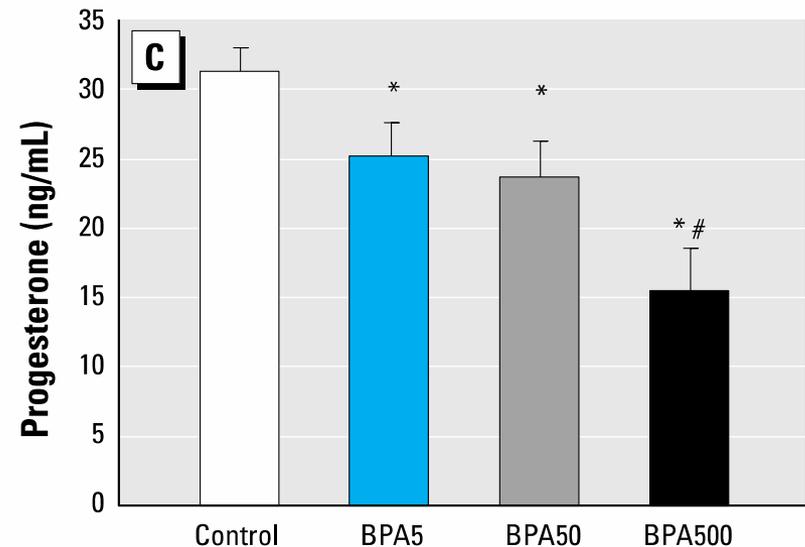


Efeitos na Vida Adulta da Exposição Neonatal ao Bisfenol A em Ratas

Concentrações de Testosterona

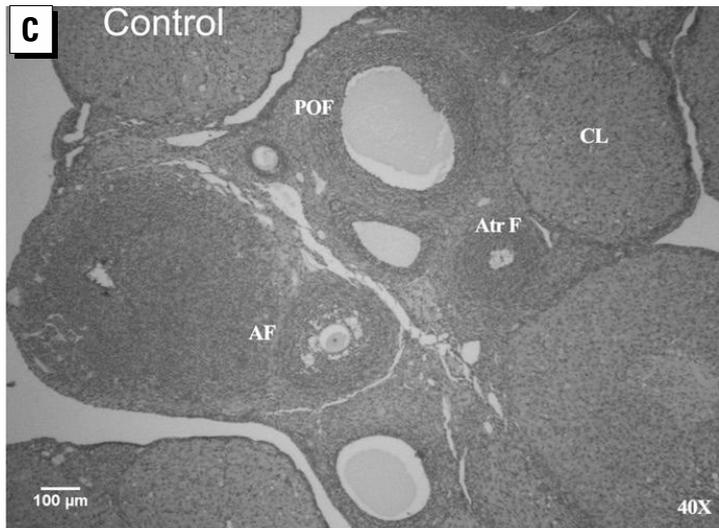


Concentrações de Progesterona



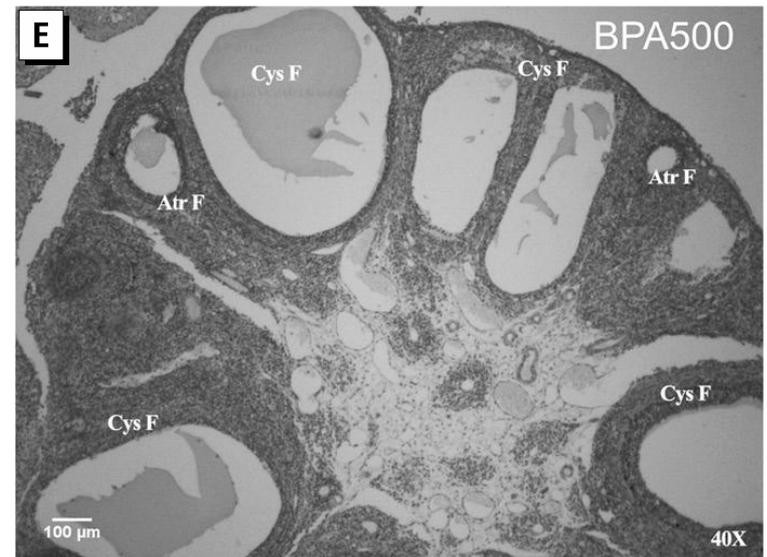
Exposição Neonatal ao Bisfenol A em Ratas

Controle

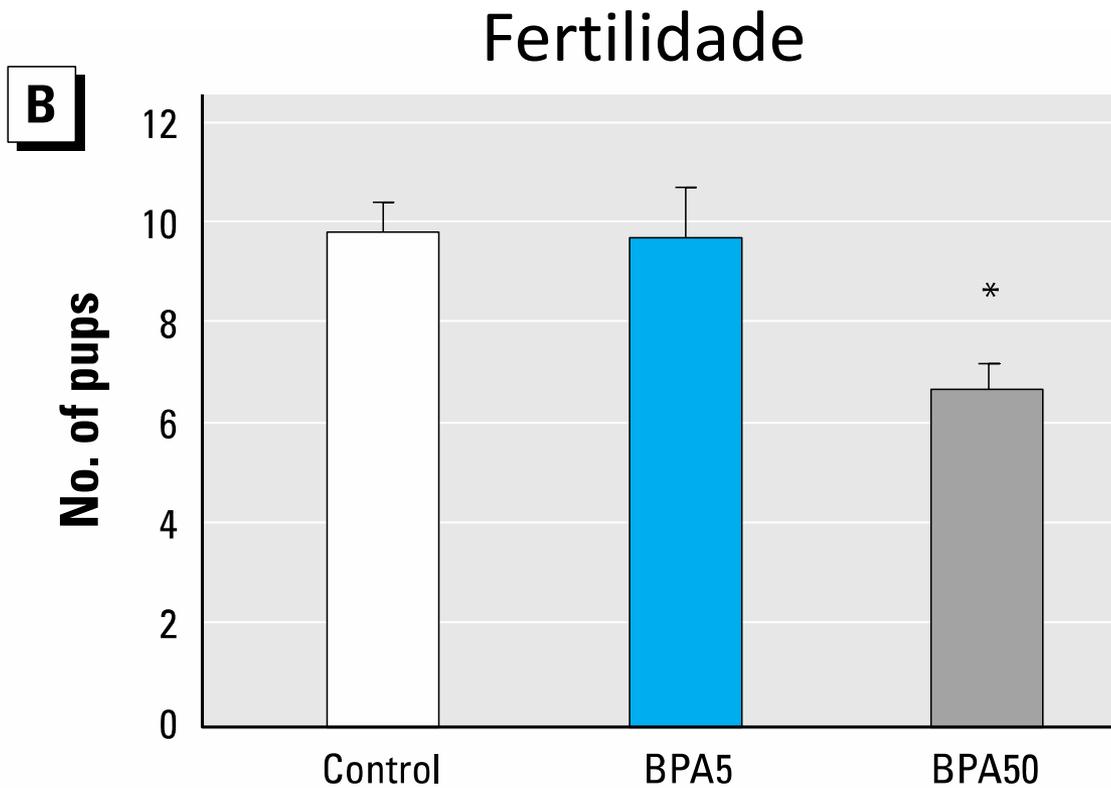


Histologia dos Ovários

Exposição Pré-Natal



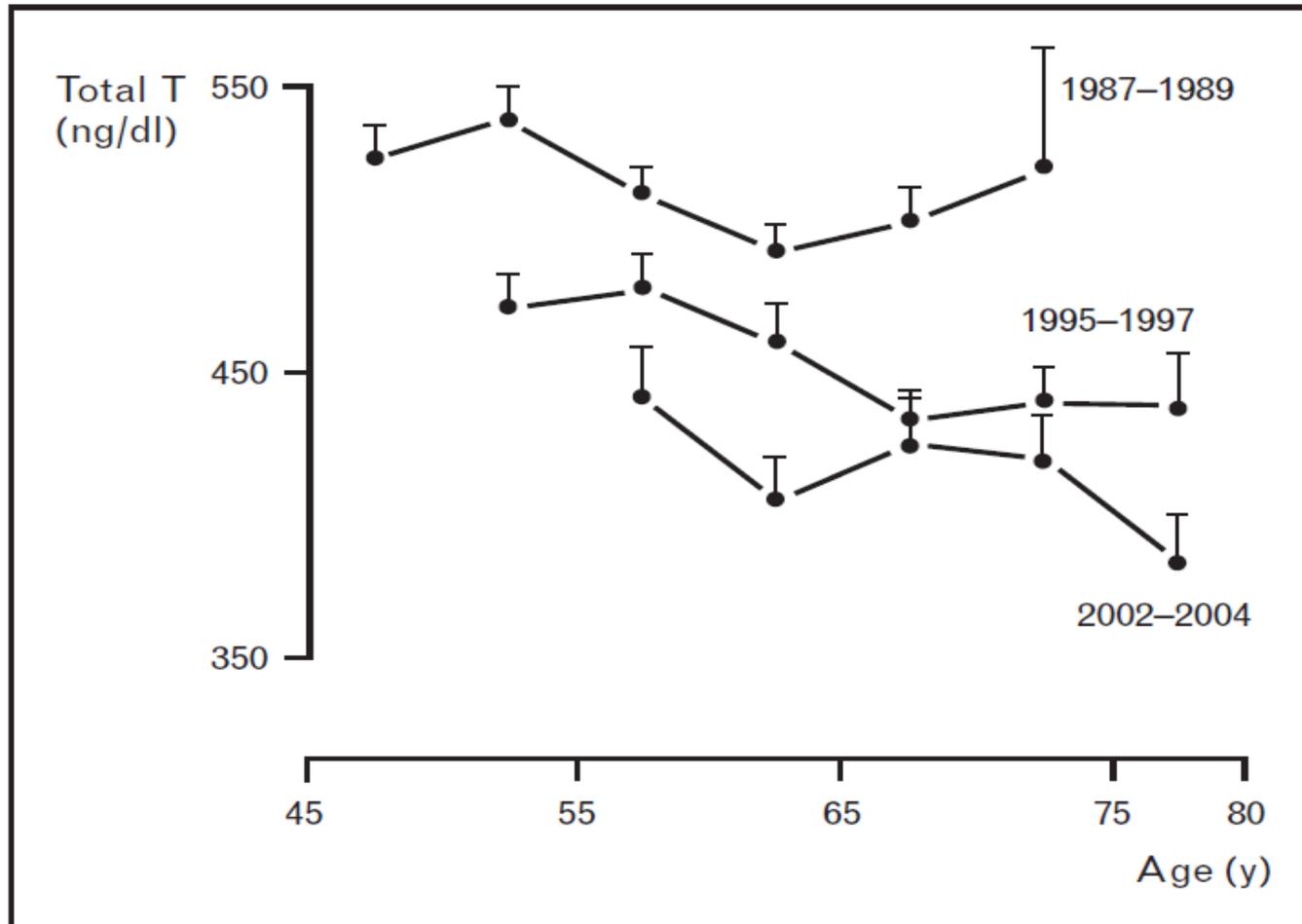
Exposição Neonatal ao Bisfenol A em Ratas



Desreguladores Endócrinos

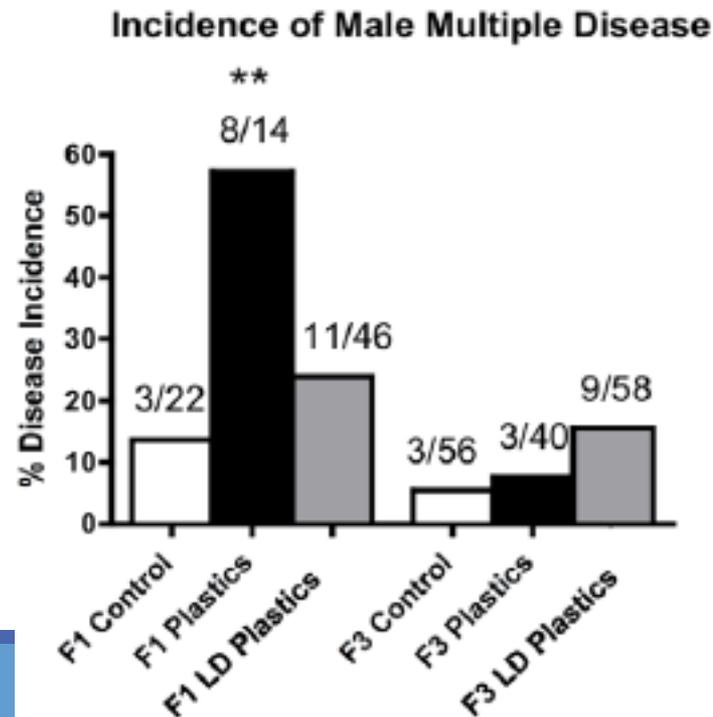
Exposição do Sexo Masculino

Tendência Secular das Concentrações Séricas de Testosterona em Homens Normais



Efeitos da Mistura de Compostos Químicos do Plástico em Camundongos: BPA - DEHP - DBP

- Efeitos com baixas doses em câncer de próstata em F1
- Maior prevalência de doenças testiculares em F1 e F3, azoospermina, atresia de túbulos seminíferos



Poluentes organoclorados e Hipospádias

- Aumento significativo da prevalência de hipospádia (2 para 8 casos/1.000 habitantes no oeste europeu)
- Associação com as hipospádias de menor gravidade
- Compostos lipofílicos persistentes:
 - Bifenilas policloradas
 - Dioxinas
 - Pesticidas (DDT e hexaclorobenzeno)

Metabólito do DDT e Hexaclorobenzeno *versus* Risco de Hipospádia

Concentrações maternas séricas

	Cases	Controls	OR	95% CI
p,p'-DDE (ng/mL)				
-0.10 (ref)	46	59	1.00	-
>0.10-1.00	52	54	1.33	0.73, 2.44
>1.00	131	116	1.69	0.97, 2.93
HCB (ng/mL)				
-0.26 (ref)	162	179	1.00	-
>0.26	75	58	1.65	1.02, 2.69

Aumento do risco, 1,8x, para hipospádia com a associação de concentrações maiores de “p,p'-DDE e HCB”

Análise de Pesticidas em Banco de Leite

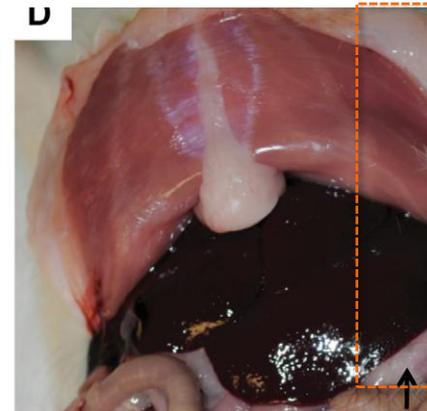
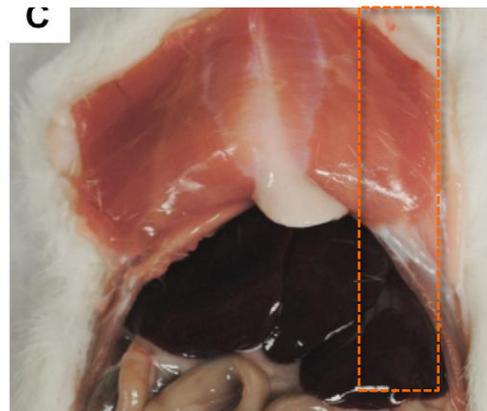
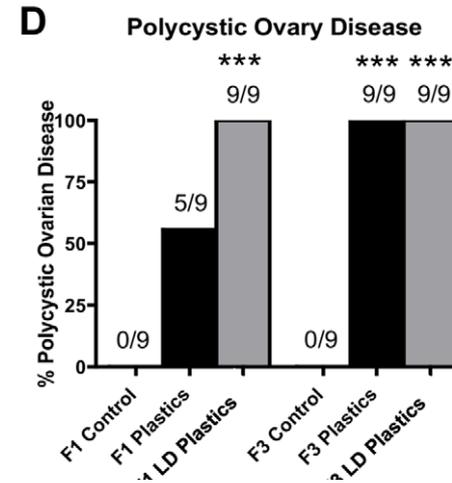
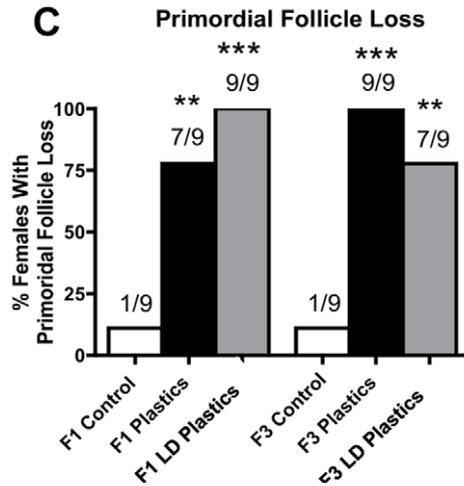
Correlação com Criptorquidia

- Dosagem de 27 compostos organoclorados em amostras de leite materno
- Pacientes com criptorquidia
 - Dinamarca (n = 29)
 - Finlândia (n = 33)
 - Controles (n= 30)
- Oito compostos, dentre eles, DDT, DDE e HCB, estavam presentes em todas as amostras
- 17/21 pesticidas foram encontrados em concentrações maiores nas amostras de leite de mães de pacientes criptorquídicos

Desreguladores Endócrinos e Criptorquidia

**Efeito aditivo da exposição
com múltiplos desreguladores**

Efeitos da Mistura de Compostos Químicos do Plástico em Camundongos – Terceira Geração

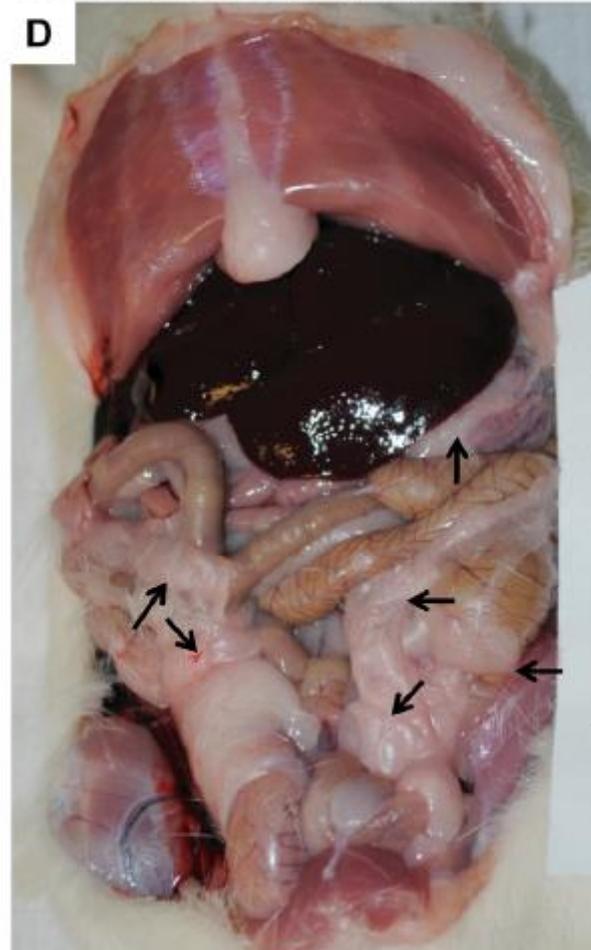


Efeitos da Mistura de Compostos Químicos do Plástico em Camundongos – Terceira Geração

Non-Obese Rat Abdominal Fat Deposition

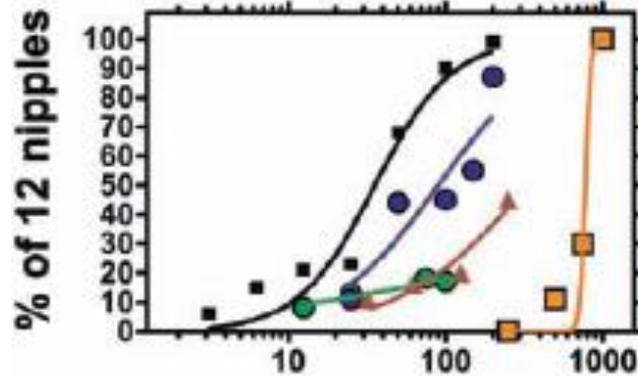


Obese Rat Abdominal Fat Deposition

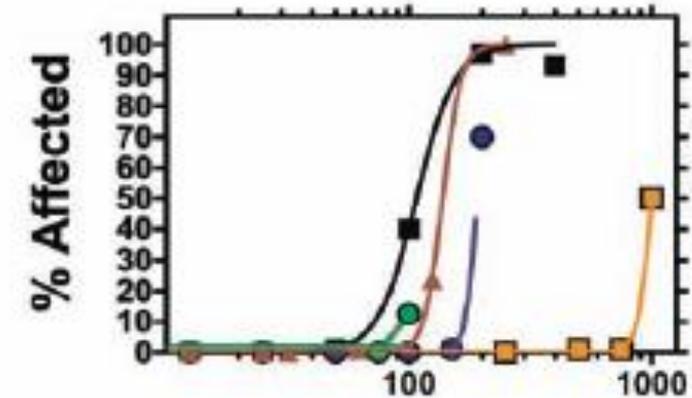


Efeitos cumulativos de antiandrogênicos no sistema reprodutivo de camundongos machos

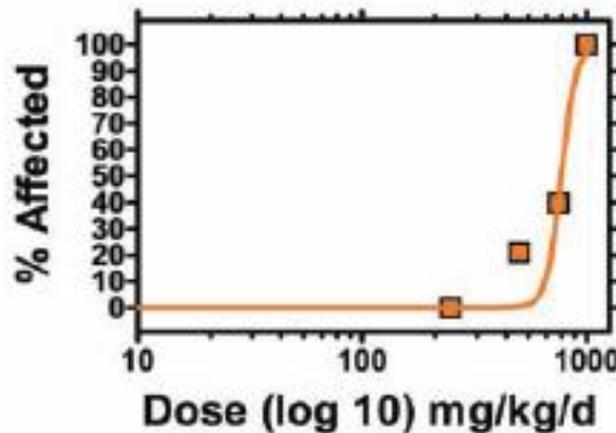
Retained Areolae/nipples in infant male rats



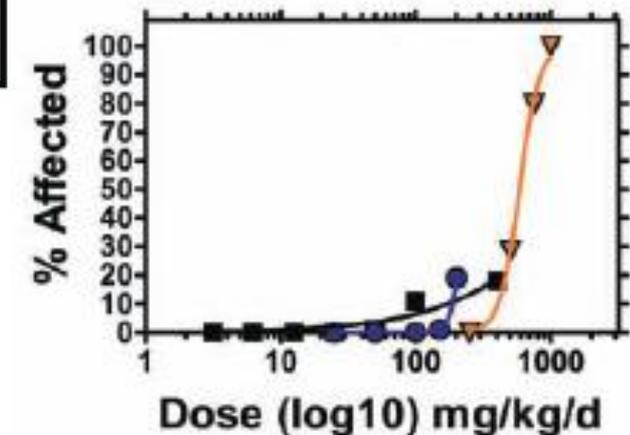
Hypospadias



Gubernacular agenesis

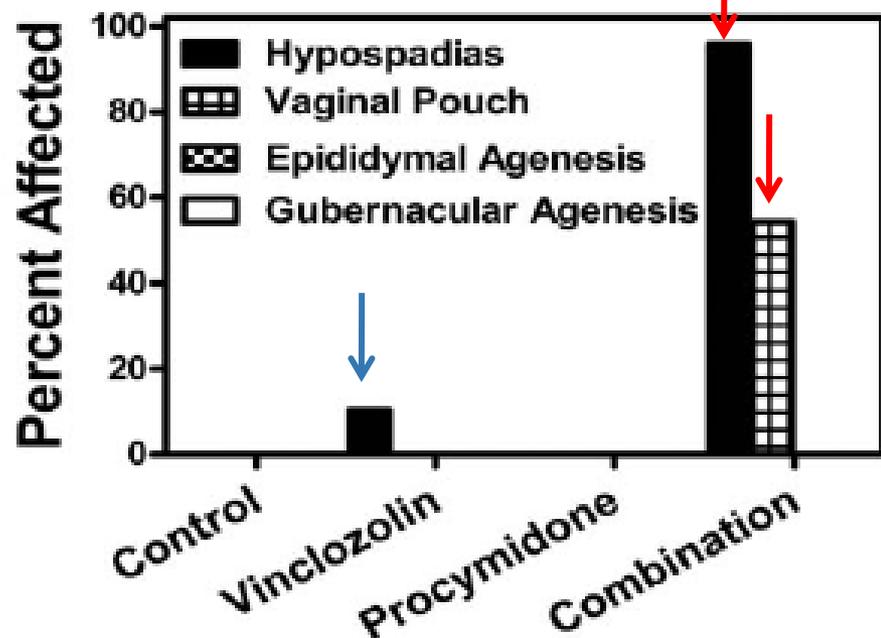


Undescended testes

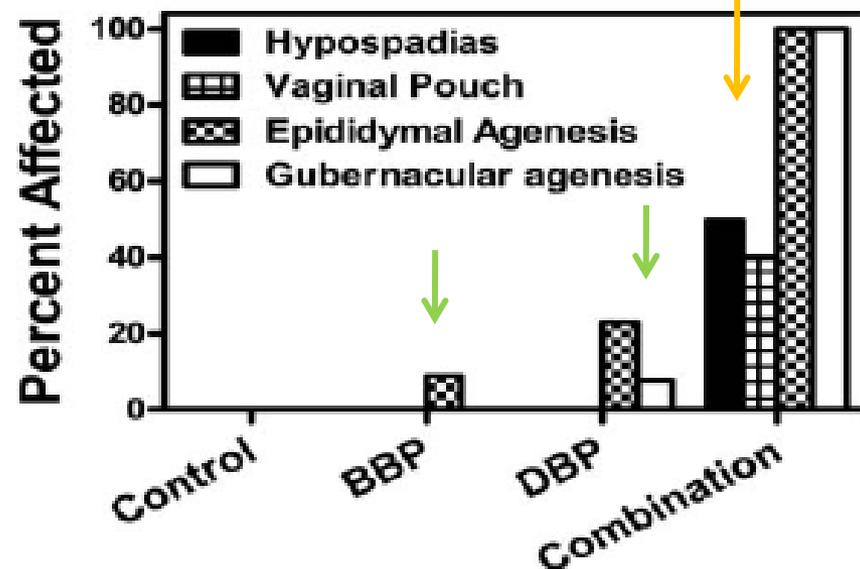


Efeitos cumulativos de misturas de antiandrogênicos no sistema reprodutivo de camundongos machos

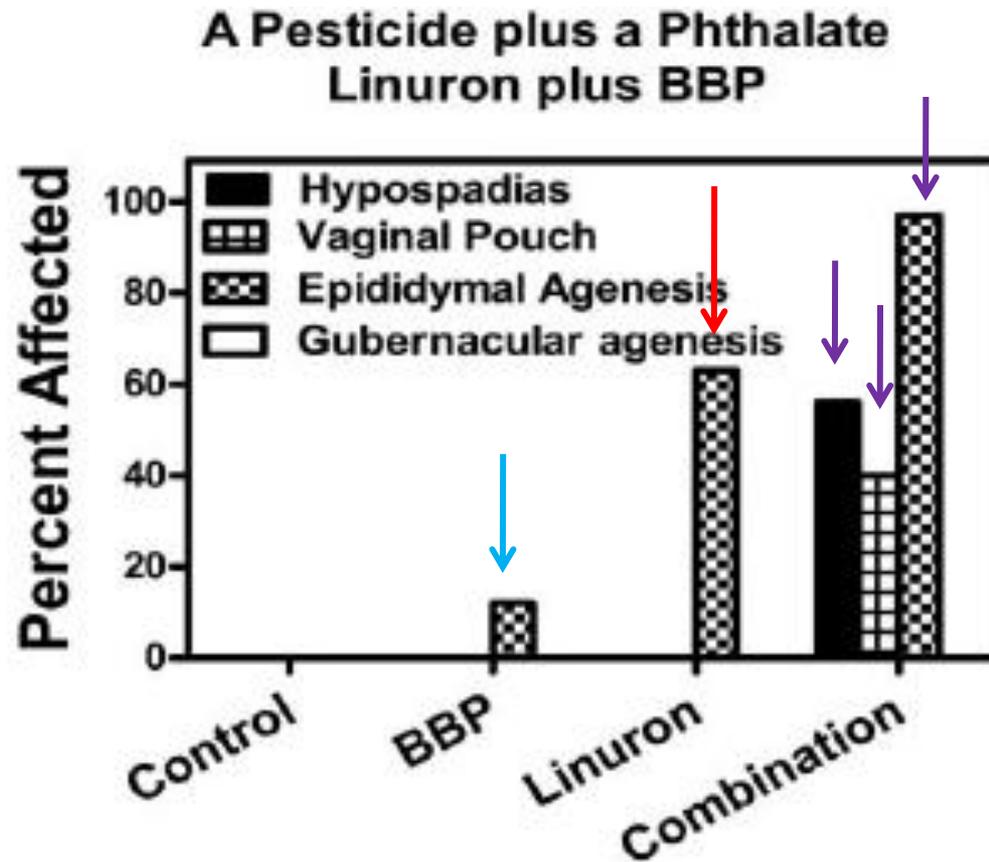
Two Androgen Receptor Antagonists



Two Phthalates DBP plus BBP



Efeitos cumulativos de misturas de antiandrogênicos no sistema reprodutivo de camundongos machos



Conclusões

- Os desreguladores endócrinos participam da programação fetal das doenças na vida adulta.
- Possuem clara relação com obesidade, doenças do trato reprodutivo e alguns tipos de cânceres.
- Medidas para a redução da exposição humana aos desreguladores são importantes para:
 - atuar na diminuição da incidência de doenças crônicas.

Incertezas com os Desreguladores Endócrinos

- A suscetibilidade aos EDCs pode depender da dose, do período de exposição e do composto.
- Doses fisiologicamente relevantes?
- Avaliação dos efeitos em longo prazo, a fim de se diferenciar causa/efeito de casualidade.
- Não são conhecidos os efeitos de uma determinada combinação de desreguladores endócrinos.
- Pouco conhecidos os efeitos transgeracionais.

Princípio da Precaução

- Minimizar a exposição humana
- Especialmente nas populações de maior suscetibilidade – na janela de exposição
- Ausência de evidência não significa evidência de ausência



Marize Lazaretti Castro
Nina Rosa Musolino
Laura Ward
Alexandre Hohl
Fábio Trujilo

Comissão Nacional de Desreguladores Endócrinos – SBEM

Elaine Frade Costa
Margaret C. S. Boguszewski
Tania A.S.S. Bachega
Ricardo M.R. Meirelles
Marília M. Guimarães
Eveline G. P. Fontenele
Maria Izabel Chiamolera



DIGA NÃO AO BISFENOL A
A VIDA NÃO TEM PLANO B
**CAMPANHA CONTRA OS
DESREGULADORES ENDÓCRINOS**
Soc. Bras. de Endocrinologia e Metabologia - SP