

Chichizola, Carlos; Scaglia, Hugo; Franconi, Cecilia; Ludueña, Beatriz; Mastandrea, Carlos; Ghione Pelayo, Alfredo

Disruptores endócrinos y el sistema reproductivo
Bioquímica y Patología Clínica, vol. 73, núm. 3, 2009, pp. 9-23
Asociación Bioquímica Argentina
Buenos Aires, Argentina

Disponible en: <http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=65121026002>

**Bioquímica y
Patología Clínica**

Bioquímica y Patología Clínica
ISSN (Versión impresa): 1515-6761
info@aba-online.org.ar
Asociación Bioquímica Argentina
Argentina

¿Cómo citar?

Número completo

Más información del artículo

Página de la revista

Disruptores endócrinos y el sistema reproductivo

Chichizola Carlos; Scaglia Hugo; Franconi Cecilia; Ludueña Beatriz;
Mastandrea Carlos; Ghione Pelayo Alfredo.

Alkemy-Center Lab

Contacto: San Lorenzo 2780 - S3000EUL - Santa Fe - Argentina

cchichizola@alkemyweb.com

RESUMEN Muchos estudios vienen demostrando que el desarrollo humano puede ser feminizado por una exposición a químicos ambientales o estrogénicos. Como sabemos el estrógeno es la hormona clave en la iniciación de la pubertad y en el final de la vida reproductiva de una mujer y además tiene una considerable importancia en la salud de esta. Los mismos químicos ambientales que afectan el reino animal pueden afectar el desarrollo mamario y la lactación, el sistema reproductivo en general y podrían desempeñar un rol en las enfermedades uterinas como fibromas y endometriosis. Estudios recientes nos muestran un mecanismo de acción de los químicos estrogénicos y otros disruptores endócrinos a nivel molecular, llamado epigenético, que puede ayudarnos a entender los efectos de largo alcance de los disruptores endócrinos. En esta revisión analizaremos los últimos e interesantes estudios de algunos de los muchos contaminantes ambientales que afectan el sistema reproductivo.

Palabras claves: disruptores endocrinos, estrógenos, químicos ambientales, sistema reproductivo.

SUMMARY Many studios are coming to show the human development may be feminized at environmental chemicals exposure or estrogenic chemicals. As we know the estrogen is the key hormone in the puberty starting and the end of the reproductive life and also has a considerable importance at the health. The same environmental chemicals that affect the animal kingdom may affect as well the lactation and the development breast, the reproductive system and they could have a rol in the uterine diseases as fibroids and endometriosis. The state of the art studies are showing us an action mechanism of the estrogenic chemicals and other endocrine disruptor at molecular level, called epigenetic, that may help us to understand the effect of long reach of the endocrine disruptor. In this review we analyze the last and interesting studios of some estrogenic chemicals to affect the reproductive system.

Keywords: endocrine disruptors, estrogens, environmental chemicals, reproductive system.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS:

AGI-índice anogenital	FSH-hormona foliculo estimulante	PCNA-antígeno nuclear de células en proliferación.
AGA-distancia anogenital	GCS-células de la granulosa	PFCs-químicos polifluorinados
BPA-bifenol A	GnRH-hormona liberadora de gonadotrofinas	PFOA-ácido perfluorooctanoico
BBzP-butilbenzil ftalato	Hox-gen homeótico	PFAS-sustancias perfluoralquiladas
BBP-butilbenzil ftalato	LH-hormona luteinizante	PFOS-ácido perfluorooctanoico sulfónico
CAR-receptor constitutivo androstano	MBP-mono n-butil ftalato	PPARs-receptor de proliferación nuclear alfa
CYP2B-citocromo P450	MBzP-mono benzil ftalato	PXR-receptor X pregnano
CYP3A-citocromo P450	MEHP-mono[2etilhexil] ftalato	PVC-policloruro de vinilo
DEHP-dietilhexil ftalato	MEHHP-mono [2etil 5 hidroxihexil] ftalato	SHBG-globulina transportadora de hormonas esteroideas
DDT-diclorodifeniltricloroetano	MEOHHP-mono [2etil5oxohexil] ftalato	TDI-ingesta tolerable diaria
DES-dietilstilbestrol	MiNP-mono isononil ftalato	TDS-disgenesia testicular
DEP-dietil ftalato	MEP-mono etil ftalato	UtLM-células leiomioma uterino humano
DiBP-diiisobutil ftalato	MMP-mono metil ftalato	UtSMC-células musculares uterinas suaves.
DiNP-diisononil-ftalato	MOFs-foliculos multiocitos	
DMP-dimetil ftalato	MXC-metoxicloro	
FAI-índice andrógenos libres	PCBs-policloruros bifenilos	

INTRODUCCIÓN

Desde mediados del siglo pasado fueron documentadas las alteraciones del sistema hormonal de diversas especies debido a la exposición a sustancias sintéticas. Este fenómeno incluye la pérdida de la capacidad reproductiva y del comportamiento sexual, mortandades masivas y alteraciones del sistema inmunológico, entre otros.

Deben destacarse como dramáticos acontecimientos surgidos por estas circunstancias que el 80 % de las águilas calvas de Florida eran estériles, la desaparición de las nutrias en ríos de Inglaterra, la infertilidad de las hembras de visones del lago Michigan, relacionado con la presencia de PCBs, el 80 % de los polluelos de gaviotas del lago Ontario morían antes de nacer, y presentaban deformidades similares a los tratados con dioxinas.

Similares acontecimientos se demostraron en hembras de gaviotas de California y en otras aves de los Grandes Lagos, Golfo de Puget y Massachussets, de los huevos de caimanes del Lago Apopka (Florida) solo el 18 % eran viables y el 60 % de los machos presentaban micropenes y las hembras deformaciones ováricas e hipofunción hormonal, fenómenos relacionados con contaminación al agua del lago con plaguicidas dicofol/keltano y DDT.

Se describió una mortandad masiva de los delfines del Mar Mediterráneo posiblemente vinculadas a PCBs, así como de las focas del Mar del Norte. En Inglaterra se comunicó la feminización de peces posiblemente por sustancias químicas procedentes de la degradación de detergentes y plásticos. En las aguas marinas de Galicia, Cataluña o Huelva se demostró alteraciones en los moluscos asociados a la exposición con tributilestano y algunos de sus derivados utilizados como antialgas.

Respecto a los seres humanos se demostró que las hijas de mujeres tratadas con DE durante el embarazo presentaban problemas reproductivos, oncológicos y malformaciones de los órganos reproductivos. En Dinamarca se describió que en hombres de 40 a 70 años se triplicó la incidencia de cáncer de próstata. En este y otros estudios realizados en diferentes países se documentó la disminución del número de espermatozoides.

Theo Colburn, zoóloga del World Wildlife Fund, encuentra como punto común a problemas sufridos por especies tan diferentes que fueron afectadas por compuestos diferentes en lugares lejanos del planeta.

En 1996, junto a Dianne Dumanoski y John Peterson Myers, publicó el libro *Nuestro Futuro Robado* que sería un hito en la denuncia y la divulgación de los problemas sobre el sistema endócrino ocasionados por un gran número de sustancias.

En 2000, Krinsky en su libro *Caos Hormonal-Hormonal Chaos*, hizo una excelente introducción a la Política, la Sociología, la Ciencia, la Historia, y la Filosofía relacionada a los disruptores endócrinos. Dice: "la hipótesis endócrina ambiental, establece que un grupo de químicos industriales y de la agricultura en contacto con humanos y animales tienen la capacidad de mimetizar u obstruir la función hormo-

nal llevándolo a aceptar nuevas instrucciones que distorsionan el desarrollo normal del organismo". (1,2,3)

La exposición a disruptores endócrinos

La acción del disruptor endócrino se produce por activar o bloquear el receptor de andrógenos o de estrógenos, actuando como un mimético o antagonista de los esteroides sexuales o modificando su síntesis. El efecto se produce a todos los niveles, reproductivo neurológico, conductual y metabólico. En este último aspecto, la acumulación de estas sustancias en el tejido adiposo, dada su afinidad por él, generan la persistencia de la acción del disruptor y su transmisión por la cadena alimentaria.

Ha sido demostrada la estrogenicidad de los alquifenoles (pnonilfenol), que se emplean como aditivo del plástico poliestireno, como componente de detergentes industriales y espermatocida, En este mismo sentido, el policarbonato y su monómero el bisfenol -A empleado en el plástico de botellas de agua destilada, es liberada cuando se esterilizan. El pnonilfenol y bisfenol -A estimulan el crecimiento *in vitro* de células de tejido mamario humano y el crecimiento uterino de ratas ovariectomizadas, fenómenos inducidos posiblemente por actuar como miméticos estrogénicos.

La disminución en el número de espermatozoides, las alteraciones del aparato genitourinario, la criptorquidia, la infertilidad y el cáncer de testículo son cada vez más frecuentes. Se hipotetizó que la exposición a contaminantes ambientales puede estar vinculada a estas patologías.

En el mismo sentido, el cáncer de mama y/o ovario, la endometriosis y el incremento de la infertilidad en la mujer podrían también estar vinculados a la exposición inadvertida a los disruptores endócrinos. Para ambos sexos posiblemente un momento crítico pudiera ser la exposición temprana en la vida intrauterina con repercusiones patológicas en el adulto.

Si bien en especies animales la asociación exposición-contaminación con disruptores endócrinos y trastornos en el comportamiento, alteraciones en el desarrollo y riesgo de enfermedad, es un hecho probado, en la especie humana, tal relación necesita aún ser demostrada. Los datos epidemiológicos parecen demostrar con algunos ejemplos que parecen evidenciar esta asociación, particularmente aquellos de carácter reproductivo que en los últimos cuarenta años se han incrementado significativamente.

Disruptores endócrinos

Definiciones y mecanismo de acción de los disruptores hormonales

Los disruptores endócrinos son sustancias químicas capaces de alterar el equilibrio hormonal que actúan a dosis muy bajas. Se los llama de diferentes maneras: disruptores endócrinos, estrógenos ambientales, xenoestrógenos, moduladores endócrinos, ecoestrógenos, hormonas ambientales,

compuestos activos hormonalmente y fitoestrógenos. (4,5) La variedad en cuanto a su naturaleza y estructura química dificulta su identificación y fuente de exposición. Pueden potenciarse en su acción, por ejemplo dos sustancias débilmente estrógenicas, por acción sinérgica; pueden convertirse en un efecto potente. También pueden desencadenar el efecto opuesto, es decir actuar como antagonistas.

Lo que se conoce hasta ahora sobre el mecanismo de acción es lo siguiente:

- Incrementan o bloquean el metabolismo de las hormonas esteroides.
- Ejercen un efecto antagonístico o sinérgico de receptores hormonales.
- Afectan la actividad transcripcional de los receptores nucleares al modular los co-reguladores por la degradación mediada del proteosoma, así como al inhibir la actividad histona deacetilasa y estimular la actividad proteína quinasa mitógena activada.
- Regulan la metilación del ADN.
- Modulan el metabolismo lipídico y la adipogénesis, tal vez contribuyendo a la epidemia corriente de obesidad. (6)

Hay una marcada evidencia del impacto de contaminantes estrogénicos en el medio ambiente. Los estudios han demostrado que el pez macho en agua contaminada con detergente expresa características femeninas, las tortugas expuestas a PCBs cambian el sexo, las ranas macho expuestas a herbicidas comunes forman ovarios múltiples, en los osos polares se produce hermafroditismo y las focas en aguas contaminadas tienen un exceso de fibrosis uterina. Si bien como, ya se ha expresado, los disruptores endócrinos mayoritariamente tienen efectos estrogénicos, pero algunos pocos son antiestrogénicos y antiandrogénicos.

Muchos de estos compuestos son contaminantes industriales, tales como los pesticidas, los derivados de la industria del plástico, y los fitoestrógenos naturales encontrados en las plantas, tales como la soja y en suplementos herbarios. Los mismos químicos que afectan la vida salvaje pueden afectar a los humanos. Los estudios a nivel epigenético proveen un mecanismo de acción de los químicos estrogénicos y otros disruptores endócrinos a nivel molecular, que ayudaría a explicar los efectos a largo plazo de la disrupción endócrina. (7,8)

Genes y disruptores endócrinos. Genes Hox

Los genes Hox, que expresan factores de transcripción, desempeñan un papel bien caracterizado en el desarrollo embriológico, determinando la identidad del eje anteroposterior del cuerpo. Además se expresan también en el adulto, donde son necesarios para la diferenciación funcional. No están debidamente dilucidados los mecanismos reguladores de la expresión del Hox. Se demostró que el estradiol, la progesterona, la testosterona, el ácido retinoico y la vitamina D regulan la expresión del gen Hox. Como en el embrión el

sistema endócrino dirige la expresión del gen Hox, alteraciones en él por exposición a disruptores endócrinos contribuye a la teratogenicidad de estos compuestos. En el adulto, la desregulación de genes Hox altera situaciones fisiológicas como la hematopoyesis y la reproducción e induce diversas endocrinopatías. (9)

Receptores y disruptores endócrinos. Receptores PXR y CAR

El receptor X pregnano (PXR) y el receptor constitutivo androstano (CAR) son receptores nucleares huérfanos activados por una cantidad de ligandos. Tienen una alta afinidad por el ligando o como sensores esteroides/xenobiótico. Ambos son reguladores importantes de muchas enzimas de detoxificación y transportadores de esteroides y xenobiótico (fase I-III) en el hígado y el intestino y, además son reguladores de adaptación importantes de estrés químico. La detoxificación proteínica inducida es responsable del metabolismo, la desactivación y el transporte de ácidos biliares, tiroides y hormonas esteroideas, numerosos químicos ambientales y muchas drogas. El PXR y el CAR activan e inhiben su actividad transcripcional respectivamente. Algunos esteroides y miméticos estrogénicos activan uno o ambos receptores, incluyendo muchos disruptores endócrinos. (10).

Pesticidas que afectan el mecanismo de detoxificación y el metabolismo de hormonas y disruptores hormonales, activando el PXP y / o CAR ó el CYP2B y CYP3A: metoxicloro, endosulfan, dieldrin, DDT, nonilfenol

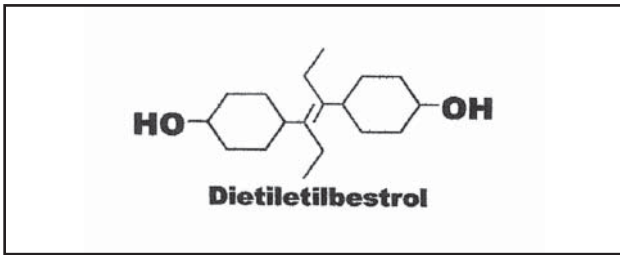
En la Tabla 1 (ver página siguiente) se muestran los principales químicos ambientales que modifican el sistema reproductivo, no obstante en esta revisión analizaremos algunos de ellos sobre la base de estudios más actuales.

Otros compuestos: benzofenona, bisfenol A, bisfenol F, benzo(a)pireno, carbendazim etano, dimetano sulfonato, perfluorooctano sulfonato (PFOS), nonilfenol, octilfenol, estireno, dímeros y trímeros

Sustancias químicas vegetales que actúan como disruptores endócrinos en el sistema reproductivo: fitoestrógenos

DES-dietilelbestrol

El caso de disrupción endócrina en seres humanos mejor documentado es el de miles de mujeres que estuvieron expuestas al DES cuando estaban desarrollándose como fetos en el útero de sus madres entre la década de 1940 y 1970. Sus madres habían sido tratadas con el fármaco DES para evitar abortos y molestias durante el embarazo. Varios estudios han concluido que las mujeres expuestas a DES presentan más posibilidades de haber nacido prematuramente y de sufrir abortos espontáneos y partos ectópicos que las mujeres no expuestas. Además, las mujeres expuestas también sufren, con mayor frecuencia, cánceres reproductivos (vagina y cérvix) y malformaciones de órganos reproductores (útero y cérvix).



En un estudio se usó el estrógeno sintético dietilstilbestrol (DES) como un disruptor endócrino perinatal potente. En experimentos humanos y en animales la exposición a DES durante un período crítico de diferenciación del tracto reproductivo altera permanentemente el tejido blanco de estrógenos y esto trae anomalías de largo tiempo, tales como neoplasia uterina que no se manifiestan hasta mucho más tarde en la vida. Mediante el uso de ratones expuestos fueron identificados mecanismos múltiples que desempeñan algún papel en los efectos tóxicos y carcinogénicos. Un estudio en murinos expuestos al DES revela el camino de expresión de genes alterada que incluye un componente regulado por los estrógenos. La exposición a DES perinatal

a bajas dosis permite conocer aún mejor los efectos causados por un pico de estrógenos ambientales que origina la enfermedad del adulto. Las bajas dosis incrementan la incidencia de tumor uterino. Se ha sugerido que la susceptibilidad aumentada a tumores se pasa desde el linaje materno a generaciones futuras y los mecanismos que involucran estos eventos transgeneracionales incluyen eventos genéticos y epigenéticos. (11,12)

Fitoestrógenos

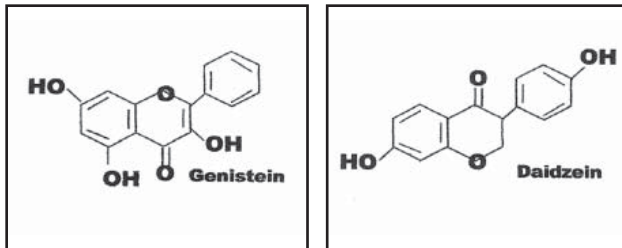
Los fitoestrógenos son sustancias químicas producidas por las plantas que actúan como estrógenos en organismos animales. Normalmente se encuentran en muy pequeñas cantidades en los alimentos. Estos compuestos son principalmente flavonoides. Los mejor conocidos son las isoflavonas que se encuentran habitualmente en la soja y en el trébol rojo. El lignano también es un fitoestrógeno importante aunque no es un flavonoide.

De acuerdo con un estudio, la semilla de lino o linaza contiene la cantidad de fitoestrógenos más elevada (lignano) seguido de la soja y el tofu (isoflavonas). (13)

Tabla 1: Químicos ambientales que actúan en el sistema reproductivo, como miméticos o antagonistas estrogénicos o androgénicos.

<i>Organoclorados</i>	<i>Antioxidantes alimentarios</i>	<i>Pesticidas</i>	<i>Fármacos</i>	<i>Ftalatos</i>	<i>Metales</i>
1,2dicloro-metano	Butilato hidroxianisola	Aldrin alletrin	DES	Butil-bencil	Cadmio
Cloroformo		Atrazina carbaril		di-butil-	Plomo
Dioxinas		Clordano cipermetrina		di-etil-hexil	Mercurio
Furanos		DDT,DDE		di-etil	
PBBS		Dieldrin Endosulfan			
PCBs		Fenarimol fenitrotion fenvalerato			
		Kepona ketoconazol			
		Lindano linuron metoxicloro mirex nonaclor			
		oxiclordano			
		permetrina			
		procimidona			
		sumitrina			
		tiram			
		toxafeno			
		Triadimenol triadimefona			
		tributiltin			
		trifuralina			
		vinclozolin			

Los fitoestrógenos están contenidos en varios alimentos y suplementos alimenticios, en particular como los productos de la soja que son otra clase de químicos que están recibiendo atención. Los dos más importantes fitoestrógenos de la soja son la genisteína y la daidzeína. Estos son dos de los más abundantes fitoestrógenos en la dieta humana y, en el caso de la genisteína debido a su actividad estrogénica, se lo propuso que tiene un papel en el mantenimiento de la salud por regular la homeostasis lipídica y de carbohidratos. [14]



Se estudiaron químicos estrogénicos que pueden causar disrupción en el desarrollo del sistema reproductivo y esto generó un debate sobre si los fitoestrógenos de la soja son benéficos, benignos o peligrosos. El estudio consistió en comparar las características metabólicas y reproductivas en ratones machos y hembras que consumieron alimentos con baja y con alta cantidad de fitoestrógenos de la soja. Se encontró en fetos cuyas madres consumieron bajos fitoestrógenos una elevación en el estradiol sérico, que fue asociado posnatalmente con el síndrome de estrogenización fetal. En las hembras este síndrome incluyó pubertad precoz, una respuesta aumentada al estrógeno; y en los machos, un reducido tamaño de testis, epidídimo y vesícula seminal con una próstata agrandada. Por otro lado, ambos ratones en la adultez se hicieron obesos, con altos niveles de leptina, aunque las hembras mostraron mejor regulación de la glucosa. [15]

Un estudio demostró que la exposición a genisteína causa efectos deletéreos en el desarrollo del sistema reproductivo femenino. Los ratones tratados neonatalmente en los días 1 a 5 con inyecciones de genisteína (0.5-50 mg/kg) exhibieron diferenciación de ovario alterado que lleva a folículos multiocitos (MOFs) a los dos meses de edad. También la función ovárica y el ciclo sexual resultaron alterados. La fertilidad fue reducida a dosis de 0.5,5 o 25 mg/Kg y la infertilidad se observó a 50 mg/kg. Por otro lado, resultó afectada la glándula mamaria y, además, se observaron efectos transgeneracionales como la descendencia y se observaron consecuencias en el desarrollo femenino en la adultez. [16,17]

Debido a la exposición de genisteína en la mujeres, se encontró una respuesta estrogénica de leiomiomas fibroides uterinos, y se evaluó el efecto de la genisteína (0,001-50 μ mL) en células de leiomioma uterino humano (UtLM) versus células musculares uterinas suaves (UtSMC) in vitro. En

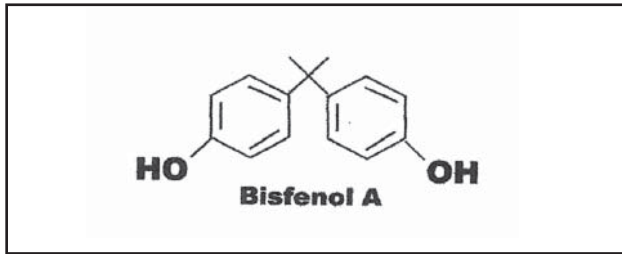
las células UtLM la baja concentración de genisteína (menor o igual a 1 microg.) estimuló la proliferación, incremento el antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA). Las concentraciones más altas (10 mg/mL) adversamente afectaron la morfología, se inhibió significativamente la proliferación, disminuyó la marca PCNA, se incrementó la actividad caspase-3 y la inducción de apoptosis en ambos tipos de células. Esto evidencia que el efecto de la genisteína es dependiente de la concentración en ambas células. [18] Otros estudios han demostrado que la exposición de genisteína altera la diferenciación murina y provoca desarrollo de ovarios anormales (multifolículos) y neoplasia uterina en la vida adulta. Además, la función reproductiva fue alterada. La función ovárica fue disrupta a baja dosis de genisteína con incremento del número de cuerpo lúteo comparado con controles y aumento de ovocitos ovulados seguidos de un tratamiento con gonadotrofinas. En contraste, los ratones tratados con alta dosis de genisteína disminuyeron el número de cuerpo lúteo, y la ovulación podría ser restaurada con gonadotrofinas exógenas. [19]

Es interesante el análisis del estudio de Ludueña y cols, donde se compararon las concentraciones de las isoflavonas daidzeína y genisteína en porotos de soja modificados y no modificados genéticamente. Se observó que tanto las concentraciones como la relación de ambas isoflavonas se invierten luego de la manipulación genética; y que es la genisteína (más activa biológicamente que la daidzeína) la de menor concentración en los porotos transgénicos. [20]

BPA-bisfenol A

Dentro del amplio grupo de los monómeros de los plásticos y los polímeros sintéticos fueron descriptos compuestos químicos con actividad disruptora endócrina. Tal es el caso del bisfenol-A, sintetizado en 1891 y descripto como xenoestrógeno en 1936 [21], si bien tal información fue pronto olvidada y tan solo redescubierta recientemente. Es un químico estrogénico más débil que el DES y mucho tiempo después se descubrió que las moléculas de BPA unidas podían formar cadenas moleculares para formar los plásticos carbonatados. El bisfenol-A es un contaminante habitual de alimentos, productos manufacturados y farmacéuticos, a los que se incorpora a partir de las resinas epoxi y los policarbonatos utilizados en la fabricación de los contenedores en que esos productos se comercializan. Se ha prestado una especial atención a la exposición humana infantil directa a bisfenol A a partir de los "composites" y selladores usados en la práctica odontológica. No es aventurado suponer que ha existido una exposición histórica de importancia a tal compuesto químico.

El BPA se usa en botellas plásticas para niños, latas de aluminio y otros recipientes destinados al cuidado de la salud. Se encontró que el 93 % de los estadounidenses tienen niveles detectables en orina.



De acuerdo con una serie de estudios, los niveles de BPA indican una media de 1 a 2 ng/mL (ppb). En toxicología clásica estos serían valores no preocupantes o aceptables, pero en los últimos años de investigación en disruptores endócrinos se encontró que el BPA a esos valores tiene numerosos efectos adversos en animales de experimentación.

En un estudio en ratones hembra CD-1 con BPA (inyecciones durante los 5 primeros días de vida con dosis de 10, 100 o 1000 µg/kg/día), se encontró a los 18 meses un incremento en los ovarios y una hiperplasia endometrial en los grupos con 100 µg/kg/día comparado con controles. Lesión proliferativa progresiva del oviducto y del ducto de Wolffian también fueron observadas en todos los grupos. Otras patologías más graves que se vieron fueron adenomiosis, leiomiomas, hiperplasia atípica y pólipos estromales. Esto sugiere que el BPA causa efectos a largo término si la exposición ocurre durante el periodo crítico de diferenciación. [22] Este es el primer estudio de BPA que registra anomalías en el tracto reproductivo en la mediana edad de la rata seguida de la exposición neonatal. Las dosis usadas son suficientemente bajas para ser ambientalmente relevantes. Los resultados no son sorprendentes dado que efectos similares se han visto en ratas expuestas al DES y se sabe que el DES es estructural y funcionalmente similar al BPA. Y esto es muy importante porque décadas de investigación con DES demostraron que los efectos encontrados en ratas son altamente predictivos de los efectos encontrados en las personas. También son relevantes porque similares anomalías son comunes en la mediana edad y poco se sabe acerca de las causas de los principales casos. Por lo tanto, son contribuyentes significativos a la infertilidad y la enfermedad humana. [22]

Un estudio revela que en la exposición a bajas dosis (50 mg/kg/día) en mamíferos muchos efectos son iguales pero no todos. Algunos son similares al DES y al etinilestradiol, aunque la potencia del BPA es 10 a 1.000 veces menor que en estos. Se ha logrado consenso en que los resultados se ven a bajas dosis de BPA: en el adulto afecta el tracto reproductivo masculino, y a largo tiempo los efectos organizacionales en respuesta a esta exposición ocurren en el cerebro, en el sistema reproductivo masculino y en los procesos metabólicos, y se requiere más confirmación en el caso del sistema reproductivo femenino, el sistema inmune y el cerebro. [23,24]

En un estudio realizado en ovejas utilizando metoxicloro (MXC) y bisfenol A (BPA) durante los primeros 90 días de gestación, se vio que el peso al nacer en hembras trata-

das con BPA fueron más bajos respecto de los controles. No hubo diferencias en el tiempo de la pubertad entre los grupos, y las hembras con BPA fueron hipergonadotróficas durante la vida postnatal temprana y hasta la finalización de su estación de cría, más tarde comparado con controles. En la caracterización de los cambios cíclicos después de la sincronización con prostaglandina F2alfa en cinco controles, seis hembras MXC y seis hembras BPA, se encontró que el inicio de la LH fue retrasado en las hembras con MXC, y el aumento de la magnitud de LH se vio gravemente reducida en las hembras BPA. Los hallazgos sugieren que la exposición prenatal a MXC y BPA tiene efectos diferenciales a largo término sobre una variedad de parámetros reproductivos que impactarían en la fertilidad. [25]

En este último año se han reportado nuevos trabajos acerca de las alteraciones de la exposición neonatal a los estrógenos y miméticos estrogénicos que confirman, por los hallazgos obtenidos, los resultados previamente publicados. [107-108]

Por último, un estudio relevante demuestra que la exposición neonatal al BPA altera los parámetros reproductivos y la función hipotálamo-hipofisaria en ratas hembras. Para nuestro conocimiento estos resultados demuestran por primera vez que la presencia de BPA en forma permanente en la etapa neonatal afecta la pulsabilidad del GnRH y la señal pituitaria de ésta. [109]

Ftalatos

Los ftalatos son una moléculas sintéticas de uso industrial existentes desde 1920, una clase de diésteres del ácido 1,2 bencenodicarbolílico (ftálico). En 1933 se sintetizó el primero: el dietilhexilftalato (DEHP), el más generalizado de todos estos plastificantes. Hoy las industrias los usan ampliamente como aditivos, por ejemplo en productos de cuidado personal y en alimentos [26, 27, 28].

En los EE.UU., y para 1994, casi el 87 % de todos los ftalatos se empleaban como agentes plastificadores en los productos de vinilo con el fin de conferirles flexibilidad [29]. Pero, debido a su toxicidad y a sus efectos de disruptores endócrinos, el DEHP fue reemplazado por el di-iso-nonil-ftalato (DiNP), que es el plastificador más común usado en Europa [30].

Los ftalatos de cadena corta y bajo peso molecular como el dimetil ftalato (DMP) y el dietil ftalato (DEP) se usan ampliamente, en especial en la industria cosmética. Se encuentra DEP en casi todos los productos de cuidado personal de infantes, niños y adultos [31] como perfumes, lociones para después de afeitarse, champúes, productos de maquillaje y para las uñas [28].

No sólo los ftalatos de cadena larga y alto peso molecular –como el butibenil ftalato (BBzP), el DEHP y el DiNP; sino también el DBP y el di-iso-butil ftalato (DiBP) son comunes en muchas clases de productos plásticos, como alfombras de vinilo, pinturas, juguetes, bolsas plásticas, guantes, za-

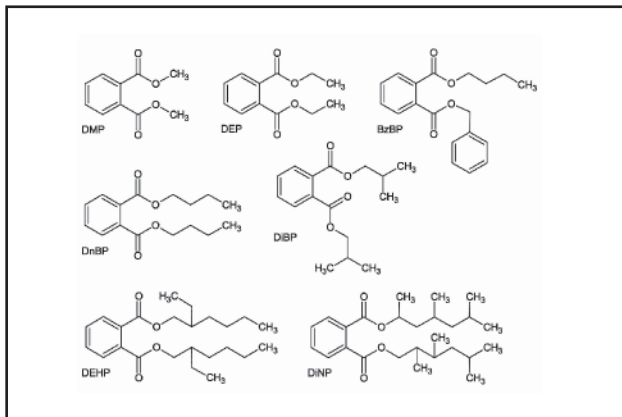


Fig.1 Ftalatos de uso más común.

patos e imitaciones de cuero. También el DEHP se usa como plastificante en algunos dispositivos médicos como bolsas de sangre, catéteres y suero. Ver Fig.1

Algunos materiales plásticos blandos tienen hasta un 40 % de DEHP [32]. En Europa la mayoría de los alimentos en contacto con plásticos contienen DEHP y DBP. El DiBP y el DHEHP también se encuentran en productos alimenticios como cereales, pan, galletitas, tortas, frutos secos, especias, grasas y aceites en cantidades de hasta 10mg/kg [28]. Aunque los ftalatos son sustancias no persistentes que se metabolizan rápidamente, la contaminación ambiental se debe a su uso generalizado y su presencia (tanto los de alto como los de bajo peso molecular) en polvo, suelo, aire interno y externo. Por lo tanto, se encuentran distribuidos ampliamente en el medio ambiente [28, 32, 33]. El 95 % del DEHP –dietilhexil ftalato-- se emplea en la fabricación del policloruro de vinilo (PVC).

La Agencia Ambiental de los EE.UU. (EPA) ubica al DEHP

como “probable cancerígeno para seres humanos” y el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU. lo clasifica como “posible cancerígeno”. Es decir, que es razonable considerar al DEHP como una sustancia que induciría cáncer en los humanos. Las ratas y los ratones a quienes se agrega en su alimentación DEHP y DiNP presentan un aumento en la incidencia de cáncer de hígado en comparación con los animales que no ingieren estas sustancias.

Las crías de ratas alimentadas con dietil hexil ftalato (DEHP), diisononil-ftalato (DiNP) y butil benzil ftalato (BBP) se desvían de las pautas normales de desarrollo sexual. En el caso de DEHP y BBP, el peso de las crías también se reduce. Otras investigaciones han encontrado efectos sutiles sobre los testículos de ratas jóvenes ante concentraciones muy bajas de DEHP. Suministrar una dosis alta de dietil ftalato (DEP) lleva a que las ratas hembras tengan crías con una costilla adicional. Y las hembras expuestas a DEP a lo largo de su vida tienen un índice más elevado de abortos espontáneos.

La reciente identificación de metabolitos de cadena larga de los ftalatos en orina humana y en otros fluidos del cuerpo demostró lo complejo de este tema. Intriga ver que el coeficiente entre los metabolitos primarios y secundarios del DEHP sea más valioso que analizar los metabolitos individuales que ya antes se asociaban a alteraciones espermáticas humanas. Ver tabla 2.

También sería interesante estudiar si otras formas de exposición, por ejemplo la dérmica, tienen una ruta metabólica diferente a la oral [64]. Ver Fig.3

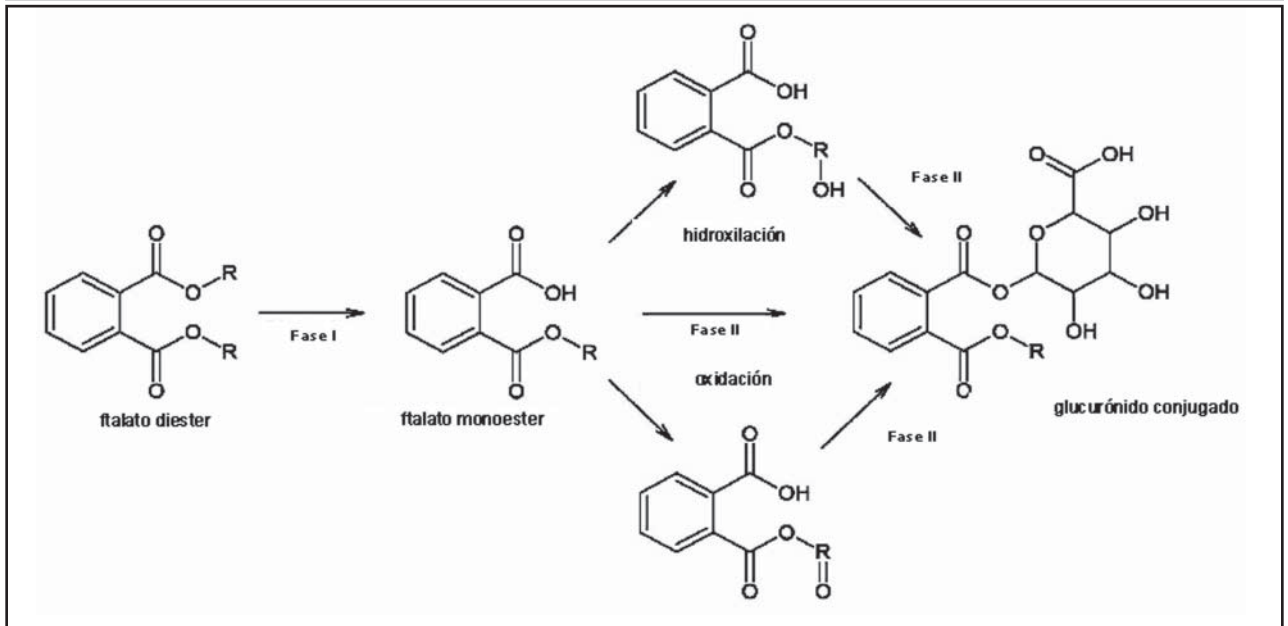
Efectos de los ftalatos en los humanos

Diferentes estudios en animales demostraron que la expo-

Tabla 2: Metabolitos de ftalatos. Diester ftalatos y sus metabolitos.

Ftalatos	Metabolitos
Dimetil ftalato DMP	Monometil ftalato MMP
Dietil ftalato DEP	Monoetil ftalato MEP
Di-n-butil ftalato DBP	Mono-n-butil ftalato MBP
Di-iso-butil ftalato DiBP	Mono-iso-butil ftalato MiBP
Butilencil ftalato BBzP	Monobencil ftalato MBzP
Di(2-etilhexil) ftalato DEHP	Mono(2-etilhexil) ftalato MEHP
	Mono(2-etil-5-hidroxihexil) ftalato MEHHP o 5OH-MEHP
	Mono(2-etil-5-oxohexil) ftalato MEOHP o 5oxo-MEHP
	Mono(2-etil-5-carboxipentil) ftalato MECPP o 5cx-MEPP
	Mono(2-carboxi-hexil) ftalato MCMHP o 2cx-MMHP
Di-iso-nonil ftalato DiNP	Mono-iso-nonil ftalatos MiNP
	Mono(hidroxi-iso-nonil) ftalato MHiNP or OH-MiNP
	Mono(oxo-iso-nonil) ftalato MOiNP o oxo-MiNP
	Mono(carboxi-iso-octil) ftalato MCIOP or cx-MiNP
Di-iso-decil ftalato DiDP	
Di(2-propilheptil) ftalato DPHP	

Fig.3 Vía Metabólica de los Ftalatos.



sición perinatal de ratas al DBP y a los ftalatos de cadena larga (BBzP, DEHP, DiNP y sus metabolitos) alteraron la diferenciación sexual: se observó criptorquidia, menos niveles de testosterona, atrofia testicular, anomalías en las células de Sertoli, menor peso de los órganos dependientes de andrógenos, disminución de la producción espermática diaria y de la cuenta espermática en epidídimo [34, 32, 35-40].

No se vieron tales efectos en la exposición a ftalatos de cadena corta como DMP y DEP [36]. Cuando las hembras preñadas eran expuestas a dosis altas de DEHP las crías tuvieron un atraso en el inicio de la pubertad. [57]. Muchas de estas observaciones en ratas expuestas son similares a las que presentan hombres con síndrome de disgenesia testicular [TDS]. [41, 34, 42]

Si bien no está del todo claro el riesgo de los ftalatos en humanos, recientes estudios lo sugieren. [43] En hombres adultos cuando el MEP se detectaba en orina fue asociado con daño en el ADN espermático, que otro estudio no pudo confirmar. No se observaron asociaciones entre el aumento del daño al ADN y MMP, MBP o MBzP. [44,45] ni con DEHP si no se consideran los metabolitos oxidativos del DEHP [44]. Pero si se incluye a estos metabolitos en el análisis, sí aparece una asociación entre DEHP y daño al ADN espermático. A mayor relación entre MEHP/ MEHHP o MEHP / MEOHP más daño al ADN espermático, lo que indica que a mayor metabolización de MEHP a metabolitos secundarios habría más protección contra el daño al ADN. [45]. En muestras de hombres concurrentes a una clínica de infertilidad se utilizó un biomarcador de potencial susceptibilidad para relacionar ftalatos con la calidad del semen y el daño al DNA espermático. Se midieron las concentraciones de di-2-etilhexil ftalato (DEHP), mono-2-etilhexil ftalato (MEHP) y de dos metabolitos oxidativos: el mono-2-5-hidroxihexil ftalato

(MEHHP) y el mono-2-etil-5oxohexil ftalato (MEOHP). Se calculó el porcentaje de DEHP excretado como MEHP, al que se lo denominó %MEHP y se lo consideró como un marcador fenotípico de la proporción de DEHP excretado en orina como MEHP. Aunque el MEHP correlacionó positivamente con los metabolitos oxidados, la asociación de daño al ADN espermático con MEHP, comparado con MEHHP y MEOHP fue inversa. Se planteó la hipótesis de que el MEHP es el tóxico bioactivo y que su metabolismo a MEHHP/MEOHP generaría una menor carga interna de MEHP lo que protegería contra el daño al ADN espermático. Una explicación alternativa sería que el porcentaje relativo de DEHP excretado como MEHP representara un sustituto para la función enzimática fase I. Los hombres con alto %MEHP tendrían altos niveles de daño al ADN espermático debido a una disminución de su metabolización (detoxificación) de otras moléculas genotóxicas. [84].

Otro estudio que relaciona la concentración urinaria de MBP con disminución de la concentración y la movilidad espermática sugiere la relación entre el nivel de MBzP y la concentración de espermatozoides. No encontró relación entre semen de baja calidad y MMP, MEP y DEHP. [47]. La razón por la cual el monoéster ftalato se asocia con el ADN espermático (asociado al MEP) y con la baja concentración espermática (asociada al MBP) no está clara. Puede ser que el metabolito de ftalato sea un intermediario para otros factores que puedan afectar su producción. Tampoco puede excluirse que las asociaciones estadísticas no sean significativas dado el bajo número de muestras estudiadas.

Otro estudio evaluó el efecto de la exposición ocupacional ante altos niveles de ésteres de ftalato sobre el eje hipofisogonadal, analizando LH, FSH, testosterona libre y estradiol. Al comparar muestras de sangre y orina de trabajadores de una empresa de construcción con las de trabajadores de

una fábrica productora de cloruro de polivinilo no espumoso expuestos a di-n-butil ftalato (DBP) y di-2-etilhexil ftalato (DEHP), estos últimos tenían significativamente elevadas las concentraciones de los metabolitos urinarios n-butil ftalato (MBP) 2-etilhexil ftalato (MEHP). La testosterona libre fue más baja y decrecía significativamente a mayor nivel del éster de ftalato. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos para los niveles de LH, FSH y estradiol. [48] Pero otro estudio sí encontró asociaciones entre las concentraciones urinarias de MBP y MBzP y las de inhibina B y FSH, [49] aunque esto no pudo ser explicado desde un punto de vista biológico y podría ser un hallazgo incidental [oportunistico].

Un estudio relacionado a la exposición fetal y neonatal a ftalatos [50, 51, 52] usó el índice anogenital (AGI) -que mide la distancia entre ambos (AGD) como marcador de masculinización-, dado que su disminución indica demasculinización. Se midió el AGI en niños de 2 a 30 meses de edad y se lo relacionó con la exposición de sus madres a ftalatos comunes mediante la excreción urinaria de sus metabolitos durante la gestación. A mayor exposición prenatal de MEP, MBP, MiBP y MBzP menor AGD (demasculinización). No hubo asociación entre AGD y MMP, mono-3-carboxypropil ftalato (MCP) o los metabolitos de DEHP (MEHP, MEHP y MEOHP) [51].

Hubo similares resultados usando diferentes métodos para estimar la exposición diaria a ftalatos de niños varones que mostraron reducción del AGI. [52]

Otro estudio fue de tipo caso-control en varones de tres meses de edad con o sin criptorquidia. Se midieron, como marcadores de función testicular temprana, testosterona, LH, FSH, inhibina B, SHBG e índice de andrógenos libres (FAI) y se relacionaron con el contenido de seis monoésteres de ftalato (MMP, MEP, MBP, MBzP, MEHP y MiNP [50,53] medidos en muestras de leche de sus respectivas madres [50]. Mientras que no se encontró una correlación entre los monoésteres de ftalato y criptorquidea, se halló una correlación entre los niveles de las hormonas reproductivas de estos varones y su exposición a alguno de los monoésteres de ftalato a través de la leche materna. MEP y MBP tuvieron correlación positiva con SHBG, MMP, MEP y MBP y el cociente LH/FAI; el MiNP con LH, y MBP también correlacionó en forma negativa con FAI. En el grupo de varones con criptorquidia MEHP y MiNP también correlacionaron positivamente con el cociente LH/FAI. [50,54]

Todos estos estudios mostraron que, a mayor exposición materna, había mayor disminución de la actividad androgénica en varones, y se encontraron también relaciones con otros efectos adversos para la salud, como asociaciones entre exposición de DHEP y endometriosis; [55] y disminución del tiempo de gestación [56].

Se expuso a conejos machos a contaminantes industriales en el agua de bebida: una mezcla de arsénico, cromo, plomo, benceno, cloroformo, fenol y tricloroetileno; alquilfenoles (como el octifenol), desinfectantes como el ácido dibromoacético, antiandrógenos, pesticidas (p,p'-DDT y vinclo-

zolin); plásticos como dibutil ftalato. Se produjo disgenesia testicular. Las lesiones incluyeron carcinoma testicular *in situ* (neoplasia germinal intratubular) -lesión precursora de los tumores celulares germinales en el hombre; y disgenesia acrosomal, caracterizada por compartir un acrosoma displásico en dos o más espermátides, lo que resulta en malformación acrosomal nuclear característica. [83]

Se estudiaron los efectos del di-2-etilhexil ftalato (DEHP) sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal de ratas hembras en edad de desarrollo; la esteroideogénesis en las células de la granulosa (CGs) y la secreción de LH por los gonadotropos. La exposición de estas ratas de 20 días de edad y durante 10 días a 500 mg de DEHP por sonda oral redujo los niveles de progesterona y estradiol, mientras aumentó los de LH. Los cultivos primarios de las GCs aisladas mostraron menor capacidad para producir progesterona como respuesta a la estimulación por LH y FSH y un menor transporte de colesterol endógeno en la mitocondria. Aumentó significativamente la respuesta de LH al GnRH en cultivos de células pituitarias aisladas. En suma, el ácido 2-etilhexanoico -un metabolito del DEHP- potenció la producción de LH bajo el estímulo con GnRH. Por lo que el DEHP tendría un efecto dual sobre el eje, estimulando la función pituitaria mientras inhibe la esteroideogénesis por las células de la granulosa. [85]

Efectos de los ftalatos en el feto y en el niño

Un nuevo estudio sugiere que la evaluación de la exposición no debería basarse solamente en el análisis de metabolitos urinarios. [82] Aunque los metabolitos de cadena larga que han sido identificados en los últimos años podrán dar más precisiones en próximos estudios. [58, 59, 60, 61, 62] En nuevos estudios se concluye que los niños están más expuestos que los adultos [63, 32, 33]. La excreción urinaria de MBP y MBzP en niños (media 4,7 años de edad) es dos veces mayor que en adultos [65].

La ingesta parece correlacionar con la edad del niño: al año de edad la ingesta de BBzP y DEHP es cuatro veces más alta, y se estimó que para DBP triplica la calculada para la ingesta de una población representativa estadounidense. Para niños de 6 a 11 años la ingesta de BBzP duplica la de la población general, mientras que la de DBP y DEHP en niños mayores es similar a la de la población general.

Aún no hay estudios sistemáticos que comparen chicos con adultos. Podrían ser diferentes los caminos metabólicos: los niños excretan los ftalatos de cadena larga principalmente como metabolitos secundarios. Nuevos estudios clarificarán esta hipótesis.

Sería útil medir los metabolitos de cadena larga en el feto a través de la placenta y luego en la leche materna. Un estudio demostró que los monoésteres de ftalato de distribuyen en cordón y placenta de acuerdo a las propiedades fisicoquímicas de cada molécula [68].

Otro estudio en recién nacidos y en sus correspondientes madres analizó la concentración media de DEHP en cordón y

sangre materna. Encontró valores de 2,05 y 1,15 µg/mL respectivamente, y una concentración media de MEHP de 0.68 µg/mL, lo que indica que el feto comparte con su madre la exposición al MEHP [69]. Esta diferencia no fue discutida, pero no es fácil medir ftalatos no metabolizados en matrices biológicas pues existe alto riesgo de contaminación ambiental.

Los niveles de MEHP encontrados contrastan con otros estudios con 14C, los que lo muestran duplicado en el plasma fetal de ratas en relación a sus madres preñadas [70]. Otro estudio encontró niveles de 2 a 12 veces mayores en otros tejidos como hígado, riñón y placenta maternos en relación a los de embriones con 14 días de gestación tras una única dosis oral marcada con 14C [71]. Esta discrepancia podría deberse a distintas especies, o reflejar la diferencia entre la exposición a una única dosis en comparación con una pre-sunta exposición constante.

Un estudio en líquido amniótico encontró MEP, MPB y MEHP a concentraciones de 9, 264 y 2,8 ng/mL respectivamente [72]. Los niveles de MBP y MEHP en orina de rata materna fueron más altas que en líquido amniótico. El grado de glucuronidación de los metabolitos fue diferente en las dos matrices: MEHP y MBP de líquido amniótico se excretaron como compuestos no conjugados en concentraciones 25 y 1000 veces menores respectivamente, que la concentración excretada en orina de rata preñada [73]. Faltan más estudios sobre la distribución de metabolitos primarios y secundarios en placenta, cordón umbilical y líquido amniótico en relación con el nivel de metabolitos en suero y orina maternos.

En un estudio en neonatos en sala de cuidados intensivos, expuestos a dispositivos plásticos –en especial DEHP-- se observó una excreción de 66 % de MECPP (10,2 mg/mL); 15% de MEHHP (2,4 mg/mL) y 14 % de MEHP (2,1 mg/mL) pero también se excretaron otros metabolitos, como MEHP del que sólo se excretó un 0.6 % [74,75]. Esta vía metabólica fue diferente a la encontrada en la población general. Si esto refleja que los neonatos y los niños usan una vía distinta a los adultos para la metabolización, o si es consecuencia del estatus de salud de los neonatos en cuidado intensivo, es un tema para seguir investigando [59, 74].

La ingesta media diaria de DEHP en niños expuestos a productos de alta concentración fue estimada en 233-352 µg/kg de peso/día lo cual es cerca del doble que la exposición estimada para un adulto típico [77]. Los niños también se exponen a MiNP y a MEHP durante la lactancia materna [78, 50, 79]. Se encontraron en fórmulas infantiles niveles de MBP y MEHP de 0,6 a 3,9, y de 5,6 a 9,1 ng/mL respectivamente [53] y también en comidas para niños, leche de vaca y otros productos lácteos de consumo que contienen ftalatos y monoéster ftalato [80, 53, 81]. Además de esto, por supuesto los niños pequeños están expuestos a los ftalatos de los productos de cuidado personal, de los juguetes y del medioambiente.

Se demostró que los metabolitos oxidados de los ftalatos de cadenas largas son los más importantes. La gran ventaja de estos metabolitos secundarios es que no son propensos a la contaminación. Los monoésteres simples son susceptibles de contaminación externa. Tienen vida media más corta. De ahí que se considere a los metabolitos secundarios de ftalatos de cadena larga como biomarcadores más adecuados. Hay muchos estudios que revelaron la exposición generalizada a ftalatos en la población general.

En humanos, después de una dosis oral de DEHP, DiNP y DPHP se excretan por orina alrededor de 74, 44 y 34 %, respectivamente.

En un estudio de 102 muestras de orina se detectaron metabolitos de cinco ftalatos. La ingesta diaria se estimó en unos pocos microgramos por kg de peso corporal y por día, aunque hubo valores más altos en casos individuales. En general los niños tienen niveles de ftalatos más altos en relación a su peso corporal. Para evaluar la exposición a DEHP y DBP en relación a los efectos adversos, se calculó el grado porcentual al cual se alcanzaban los valores de TDI (ingesta tolerable diaria) individual. Introducir el valor acumulable de TDI –que por definición es igual al 100 %-- permite posicionarse mucho mejor para evaluar el posible riesgo para la salud que resulta de la exposición a muchos ftalatos [76].

Químicos polifluorinados-perfluoralquilados

Los químicos polifluorinados (PFCs) son sustancias químicas sintéticas de alta estabilidad y muy baja tensión superficial. La mayoría son insolubles en agua y en solventes orgánicos; y repelen la suciedad, el agua y los aceites. El ácido perfluorooctanoico o PFOA se emplea desde 1951 como reactivo intermedio en la fabricación de compuestos derivados de fluoropolímeros y fluoroelastómeros, tales como revestimientos plásticos, y principalmente se usa para la elaboración del teflón, de uso muy expandido en utensilios de cocina, como aditivo graso de pororó en bolsas de microondas, de las cuales pueden ser liberadas gradualmente durante el calentamiento y disiparse a los alimentos. [86] Aunque son muy costosos se usan como surfactantes en la industria, en pinturas, impregnación de textiles, ropa, zapatillas, amoblamiento y alfombras. Otros usos son como lubricantes, ceras para pisos y autos, y en espuma para combatir incendios.

Las sustancias perfluoralquiladas (PFAS) como el ácido perfluorooctano sulfónico (PFOS) y el ácido perfluorooctanoico (PFOA) son los más persistentes en el medio ambiente y han sido descubiertos como contaminantes globales de aire, agua y suelo, y aun se han encontrado en áreas polares remotas. [87]

El aire interior contiene en general 25-100 veces mas PFAS que el exterior, y el polvo de las casas puede estar muy contaminado. [88,89]

Los niños quienes juegan en el piso recogen el polvo con los dedos y pueden luego ingerirlos, y de acuerdo con el peso relativo del cuerpo de los niños, estos tienen de 5-10 veces

más ingesta de PFCs en el interior que los adultos. [90] Los PFCs son lipofóbicos e hidrofóbicos y, por lo tanto, no se acumulan en los lípidos pero sí en sangre, hígado y riñones. El PFOS es el más abundante y se ha encontrado en hígado, riñones, bazo, vesícula biliar y testes: y ha sido determinado en sangre (donde se encuentran unidos a proteínas) y muestras hepáticas de varios mamíferos acuáticos (focas, nutrias, leones marinos, delfines, osos polares y visones), pájaros, pescados y humanos. Niveles altos de PFOS se encontraron en osos polares del Ártico. [91,92,93,94,95].

La toxicidad aguda de estas sustancias es moderada pero algunos pueden inducir PPARs en hígados de ratas y pueden cambiar la fluidez de las membranas celulares.

Algunos de estos PFCs, como los PFOS y los PFOA, son tóxicos potenciales y están bajo sospecha de disruptores endócrinos con efectos en los niveles de las hormonas sexuales que resultan en niveles más bajos de testosterona y más altos de estradiol. Otros tienen efectos en cultivos celulares. Uno de los más preocupantes efectos de estas sustancias es sobre las células de Leydig en las testis de ratones, donde los efectos registrados tienen una fuerte semejanza a observaciones de la clínica de hombres infértiles que solicitan ayuda para asistencia reproductiva [96]. Se observa hiperplasia de células de Leydig o bajos niveles de testosterona [97]. En roedores se observa lo mismo y eventualmente adenomas de células de Leydig [98] Un PFCs puede inducir estos efectos en el adulto.

Un estudio de los efectos en las testis de ratas adultas expuestas a PFOA mostró una reducida expresión de muchos genes involucrados en el transporte de colesterol, en la esteroideogénesis y una reducción de los niveles de testosterona [99,100]

La función reducida de la testis se acopló al síndrome de disgenesia testicular (TDS). [101] La hipótesis de que la exposición en útero a los disruptores endócrinos puede dañar el desarrollo de la testis y llevar a una función reducida en el adulto con síntomas que van de moderadamente reducida calidad de semen a cáncer testicular. El mejor modelo animal para estudiar el TDS consiste en ratas expuestas a ftalatos de largas cadenas en un tiempo de ventana crítico durante el desarrollo [102]. La exposición resulta en testis disgenésicas con hiperplasia de células de Leydig y un grupo de las células de Leydig en el centro de la testis, lo que resulta en niveles de testosterona reducida y fertilidad comprometida en el adulto. [103,104]

De cualquier manera, el hecho de que la vida media de los químicos en los humanos es mucho más larga que en los animales, y el clearance renal en humanos es insignificante con respecto a los animales, hace que la evaluación de riesgo en humanos sobre animales de experimentación sea cuestionable.

Debido a que la exposición es tan considerable y su uso parece incrementarse, es que hay una necesidad urgente de

tomar acción sobre estas sustancias. [106]

CONCLUSIÓN

Se requiere todavía de más investigación científica, varias preguntas están sin respuestas todavía. Una de ellas es si se extrapolaran los resultados obtenidos en estudios con animales o los realizados con células *in vitro* a los seres humanos. Otra es si los resultados obtenidos *in vitro* con altas concentraciones se replicaran *in vivo* a bajas concentraciones. Las Ciencias de la salud, la Toxicología y la Endocrinología desempeñan un papel muy importante en el seguimiento de los químicos que se encuentran en nuestro entorno, y en la producción de estos industrialmente, en orden de seguir investigando y poder ser concluyente a la hora de exigir la reducción a la exposición de ciertos químicos ambientales que fundamentalmente a nivel uterino pueden causar daño inminente o desarrollarlo en un período posterior en la vida.

BIBLIOGRAFÍA

- 1-R. C a r s o n. Silent Spring. Boston, Houghton Mifflin, 1962.
- 2-Theo Colborn, John Peterson Myers, Dianne Dumanoski. Our Stolen Future. Dutton, New York.1996.
- 3-K r i m s k y, S. Hormonal Chaos. The Scientific and Social Origins of the Environmental Endocrine Hypothesis. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD.2000. Reviewed by Arnold Schecter, MD, MPH / JAMA 8nov00
- 4-Chichizola, C. Disruptores Endócrinos. Efectos en la Reproducción. Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo. 2003; 40(3):172-188.
- 5-Chichizola, C. Disruptores Endócrinos. Efectos en la Reproducción. 2da Parte. Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo. 2004; 41(2):78-105.
- 6-Tabb, M. M. & Blumberg, B. New modes of action for endocrine disrupting chemicals. Molecular Endocrinology. 2006; 20: 475–482.
- 7-McLachlan JA, Simpson E, Martin M. Endocrine disrupters and female reproductive health. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2006;20(1):63-75.
- 8-Chichizola.C.,Scaglia.H. Disruptores Endócrinos y Función Testicular. Revista Internacional de Andrología. España. 2007; 5(2):181-192.
- 9-Daftary GS, Taylor HS. Endocrine regulation of HOX genes. EndocrRev. 2006; 27(4):331-55.
- 10-Kretschmer XC, Baldwin WS. CAR and PXR: xenosensors of endocrine disrupters? Chem Biol Interact. 2005;155(3):111-28.
- 11-Newbold RR, Padilla-Banks E, Jefferson WN. Adverse effects of the model environmental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent generations. Endocrinology. 2006;147(6 Suppl):S11-7.
- 12-NewboldRR.Lessons learned from perinatal exposure to diethylstilbestrol. Toxicol Appl Pharmacol.2004; 1992:142-50,
- 13-Phytoestrogen data source: Thompson, L. U., Boucher, B. A., Lui, Z., Cotterchio, M., and Kreiger, N. Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans and coumestran. Nutrition and Cancer. 2006; 54(2), 184-201.
- 14- Park, D., Huang, T. & Frishman, W. H. Phytoestrogens as cardioprotective agents. Cardiology in Review . 2005;(13): 13–17.
- 15-Ruhlen RL, Howdeshell KL, Mao J, Taylor JA, Bronson FH, Newbold RR, Welshons WV, vom Saal FS. Low phytoestrogen levels in feed increase fetal serum estradiol resulting in the “fetal estrogenization syndrome” and obesity in CD-1 mice. Environ Health Perspect. 2008;116(3):322-8.
- 16-Jefferson WN, Padilla-Banks E, Newbold RR. Disruption of the developing female reproductive system by phytoestrogens: genistein as an example. Mol Nutr Food Res. 2007; (7):832-44.
- 17-Jefferson WN, Padilla-Banks E, Newbold RR. Disruption of the female reproductive system by the phytoestrogen genistein. Reprod Toxicol. 2007; 23(3):308-16.
- 18-Moore AB, Castro L, Yu L, Zheng X, Di X, Sifre MI, Kissling GE, Newbold RR, Bortner CD, Dixon D. Stimulatory and inhibitory effects of genistein on human uterine leiomyoma cell proliferation are influenced by the concentration. Hum Reprod. 2007;(10):2623-31.
- 19-Jefferson WN, Padilla-Banks E, Newbold RR. Studies of the effects of neonatal exposure to genistein on the developing female reproductive system. J AOAC Int. 2006;89(4):1189-96.
- 20-Ludueña B.,Mastandrea C.,Franconi M.,Chichizola C.-Isoflavonas en soja, contenido de daidzeína y genisteína y su importancia biológica. Revista Bioquímica y Patología Clínica. 2007; 71(1):54-66.
- 21-Dodds, E.C.; Lawson, W. Synttetic Estrogenic Agents without the phenanthrene nucleus.Nature 1936;(13):996.
- 22-Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Banks E. Long-term adverse effects of neonatal exposure to bisphenol A on the murine female reproductive tract. Reprod Toxicol. 2007;24(2):253-8.
- 23-Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, Vandenberg JG, Walser-Kuntz DR, vom Saal FS. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. Reprod Toxicol. 2007;24(2):199-224.
- 24-Wetherill YB, Akingbemi BT, Kanno J, McLachlan JA, Nadal A, Sonnenschein C, Watson CS, Zoeller RT, Belcher SM. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. Reprod Toxicol. 2007;24(2):178-98.
- 25-Mozhgan Savabieasfahani, Kurunthachalam Kannan, Olga Astapova, Neil P. Evans and Vasantha Padmanabhan Developmental Programming: Differential Effects of Prenatal Exposure to Bisphenol-A or Methoxychlor on Reproductive Function. Endocrinology. 2006 Dec;147(12):5956-66.
- 26-Petersen, J. H., Breindahl, T., Plasticizers in total diet samples,baby food and infant formulae, Food Addit. Contam. 2000;17: 133–141.
- [27] Schettler, T., Human exposure to phthalates via consumer products, Int. J. Androl. 2006; 29:134 –139.
- 28-Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M., Hungerbuhler,K., What are the sources of exposure to eight frequentlyused phthalic acid esters in Europeans Risk Anal. 2006;26:803–824.
- [29] Graham, P. R., Phthalate ester plasticizers – why and how they are used, Environ. Health Perspect. 1973; 3:3–12. about PVC, PVCplus Kommunikation GmbH, Bonn 2005,pp. 1–20, <http://www.agpu.de/index.php>.
- 31-Houlihan, J., Brody, C., Schwan, B., Not too pretty; Phthalates,beauty products & the PDA, Environmental Working Group, USA 2002, http://www.ewg.org/reports_content/nottoopretty/nottoopretty_final.pdf.
- [32] CDC, Third national report on human exposure to environmental chemicals, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA, 2005, <http://www.cdc.gov/ex>

- posurereport/pdf/thirdreport.pdf.
- [33] Miller, A. K., Nielsen, E., Ladefoged, O., Human exposure to selected phthalates in Denmark, The Danish Veterinary and Food Administration, FødevareRapport.2003;15:1–156. <http://www.foedevarestyrelsen.dk/Fdir/Publications/2003015/Rapport.pdf>.
- 34-Foster, P. M., Disruption of reproductive development in male rat offspring following in utero exposure to phthalate esters, *Int. J. Androl.* 2006;29:140–147.
- 35-Foster, P. M., Cattley, R. C., Mylchreest, E., Effects of di-n-butyl phthalate (DBP) on male reproductive development in the rat: Implications for human risk assessment, *Food Chem. Toxicol.* 2000; 38:97–99.
- 36 Gray, L. E., Jr., Ostby, J., Furr, J., Price, M., *et al.*, Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat, *Toxicol. Sci.* 2000; 58:350–365.
- 37- Lee, K. Y., Shibutani, M., Takagi, H., Kato, N., *et al.*, Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation, *Toxicology* 2004;203:221–238.
- 38- Mylchreest, E., Sar, M., Cattley, R. C., Foster, P. M., Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1999;156: 81–95.
- 39-Parks, L. G., Ostby, J. S., Lambright, C. R., Abbott, B. D., *et al.*, The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat, *Toxicol. Sci.* 2000; 58:339–349.
- 40- Dalsenter, P. R., Santana, G. M., Grande, S. W., Andrade, A.J., *et al.*, Phthalate affect the reproductive function and sexual behavior of male Wistar rats, *Hum. Exp. Toxicol.* 2006; 25:297–303.
- 41-Fisher, J. S., Macpherson, S., Marchetti, N., Sharpe, R. M., Human “testicular dysgenesis syndrome”: A possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate, *Hum. Reprod.* 2003;18:1383–1394.
- 42-Skakkebæk, N. E., Jørgensen, N., Main, K. M., Rajpert-De Meyts, E., *et al.*, Is human fecundity declining? *Int. J. Androl.* 2006; 29:2–11.
- 43- Sharpe, R. M., Phthalate exposure during pregnancy and lower anogenital index in boys: Wider implications for the general population? *Environ. Health Perspect.* 2005; 113:504–505.
- 44-Duty, S. M., Singh, N. P., Silva, M. J., Barr, D. B., *et al.*, The relationship between environmental exposures to phthalates and DNA damage in human sperm using the neutral comet assay, *Environ. Health Perspect.* 2003; 111:1164–1169.
- 45-Hauser, R., Meeker, J. D., Singh, N. P., Silva, M. J., *et al.*, DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites, *Hum. Reprod.* 2007; 22:688–695.
- 46-Jonsson, B. A., Richthoff, J., Rylander, L., Giwercman, A., *et al.*, Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men, *Epidemiology* 2005;16(4):487-93.
- 47-Hauser, R., Meeker, J. D., Duty, S., Silva, M. J., *et al.*, Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites, *Epidemiology* 2006;17:682–691.
- 48-Pan, G., Hanaoka, T., Yoshimura, M., Zhang, S., *et al.*, Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP): A cross-sectional study in China, *Environ. Health Perspect.* 2006;114:1643–1648.
- 49-Duty, S. M., Calafat, A. M., Silva, M. J., Ryan, L., *et al.*, Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men, *Hum. Reprod.* 2005;20:604–610.
- 50-Main, K. M., Mortensen, G. K., Kaleva, M. M., Boisen, K.A., *et al.*, Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age, *Environ. Health Perspect* 2006; 114:270–276.
- 51-Swan, S. H., Main, K. M., Liu, F., Stewart, S. L., *et al.*, Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure, *Environ. Health Perspect.* 2005;113:1056–1061.
- 52-Marsee, K., Woodruff, T. J., Axelrad, D. A., Calafat, A. M., *et al.*, Estimated daily phthalate exposures in a population of mothers of male infants exhibiting reduced anogenital distance, *Environ. Health Perspect.* 2006; 114:805–809.
- 53-Mortensen, G. K., Main, K. M., Andersson, A.-M., Leffers, H. *et al.*, Determination of phthalate monoesters in human breast milk, consumer milk and infant formula by tandem mass spectrometry [LC/MC/MS], *Anal. Bioanal. Chem.* 2005 Jun;382(4):1084-92.
- 54-Lottrup, G., Andersson, A. M., Leffers, H., Mortensen, G. K., *et al.*, Possible impact of phthalates on infant reproductive health, *Int. J. Androl.* 2006;29:172–180.
- 55-Cobellis, L., Latini, G., De Felice, C., Razzi, S., *et al.*, High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis, *Hum. Reprod.* 2003;18:1512–1515.
- 56-Latini, G., De Felice, C., Presta, G., Del Vecchio, A. *et al.*, In utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate and duration of human pregnancy, *Environ. Health Perspect.* 2003; 111:1783–1785.
- 57-Grande, S. W., Andrade, A. J., Talsness, C. E., Grote, K., *et al.*, A dose-response study following in utero and lactational exposure to di[2-ethylhexyl]phthalate: Effects on female rat reproductive development, *Toxicol. Sci.* 2006; 91:247–254.
- 58-Koch, H. M., Bolt, H. M., Preuss, R., Angerer, J., New metabolites of di[2-ethylhexyl]phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP, *Arch. Toxicol.* 2005; 79:367–376.
- 59-Preuss, R., Koch, H. M., Angerer, J., Biological mo-

- onitoring of the five major metabolites of di-[2-ethylhexyl]phthalate [DEHP] in human urine using column-switching liquid chromatography- tandem mass spectrometry, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005; 816:269–280.
- 60-Silva, M. J., Reidy, J. A., Preau, J. L., Jr., Needham, L. L., *et al.*, Oxidative metabolites of diisononyl phthalate as biomarkers for human exposure assessment, *Environ. Health Perspect.* 2006; 114:1158–1161.
- 61-Koch, H. M., Muller, J., Angerer, J., Determination of secondary, oxidised di-iso-nonylphthalate (DINP) metabolites in human urine representative for the exposure to commercial DINP plasticizers, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007; 847:114–125.
- 62-Koch, H. M., Muller, J., Angerer, J., Determination of secondary, oxidised di-iso-nonylphthalate (DINP) metabolites in human urine representative for the exposure to commercial DINP plasticizers, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2006; 847:114–125.
- 63-Wormuth, M., Scheringer, M., Vollenweider, M., Hungerbühler, K., What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans? *Risk Anal.* 2006; 26:803–824.
- 64- Hanne Frederiksen, Niels E. Skakkebak and Anna-Maria Andersson- Review Metabolism of phthalates in humans- *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51:899 – 911.
- 65-Fabjan, E., Hulzebos, E., Mennes, W., Piersma, A. H., A category approach for reproductive effects of phthalates, *Crit. Rev. Toxicol.* 2006; 36:695–726.
- 66-McKee, R. H., Butala, J. H., David, R. M., Gans, G., NTP center for the evaluation of risks to human reproduction reports on phthalates: Addressing the data gaps, *Reprod. Toxicol.* 2004; 18:1–22.
- 67-Koch, H. M., Becker, K., Wittassek, M., Seiwert, M., *et al.*, Di-n-butylphthalate and butylbenzylphthalate – urinary metabolite levels and estimated daily intakes: Pilot study for the German Environmental Survey on children, *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2006, DOI: 10.1038/sj.jes.7500526.
- 68-Mose, T., Mortensen, G. K., Hedegaard, M., Knudsen, L. E., Phthalate monoesters in perfusate from a dual placenta perfusion system, the placenta tissue and umbilical cord blood, *Reprod. Toxicol.* 2006; 23:83–91.
- 69-Latini, G., De Felice, C., Presta, G., Del Vecchio, A., *et al.*, Exposure to di[2-ethylhexyl]phthalate in humans during pregnancy. A preliminary report, *Biol. Neonate* 2003; 83:22–24.
- 70-Fennell, T. R., Krol, W. L., Sumner, S. C., Snyder, R. W., Pharmacokinetics of dibutylphthalate in pregnant rats, *Toxicol. Sci.* 2004; 82:407–418.
- 71-Saillenfait, A. M., Payan, J. P., Fabry, J. P., Beydon, D., *et al.*, Assessment of the developmental toxicity, metabolism, and placental transfer of Di-n-butyl phthalate administered to pregnant rats, *Toxicol. Sci.* 1998; 45:212–224.
- 72-Silva, M. J., Reidy, J. A., Herbert, A. R., Preau, J. L., Jr., *et al.*, Detection of phthalate metabolites in human amniotic fluid, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2004; 72:1226–1231.
- 73-Calafat, A. M., Brock, J. W., Silva, M. J., Gray, L. E., Jr., *et al.*, Urinary and amniotic fluid levels of phthalate monoesters in rats after the oral administration of di[2-ethylhexyl] phthalate and di-n-butyl phthalate, *Toxicology* 2006; 217:22–30.
- 74-Silva, M. J., Reidy, J. A., Preau, J. L., Samandar, E., *et al.*, Measurement of eight urinary metabolites of di[2-ethylhexyl] phthalate as biomarkers for human exposure assessment, *Biomarkers* 2006; 11:1–13.
- 75-Calafat, A. M., Needham, L. L., Silva, M. J., Lambert, G., Exposure to di-[2-ethylhexyl] phthalate among premature neonates in a neonatal intensive care unit, *Pediatrics* 2004; 113:429–434.
- 76- Matthias Wittassek and Jürgen Angerer- Phthalates: metabolism and exposure. *International Journal of Andrology.* 2008; 31:131–138
- 77-Weuve, J., Sanchez, B. N., Calafat, A. M., Schettler, T., *et al.*, Exposure to phthalates in neonatal intensive care unit infants: Urinary concentrations of monoesters and oxidative metabolites, *Environ. Health Perspect.* 2006; 114:1424–1431.
- 78-Calafat, A. M., Slakman, A. R., Silva, M. J., Herbert, A. R., *et al.*, Automated solid phase extraction and quantitative analysis of human milk for 13 phthalate metabolites, *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2004; 805:49–56.
- 79-Zhu, J., Phillips, S. P., Feng, Y. L., Yang, X., Phthalate esters in human milk: Concentration variations over a 6-month postpartum time, *Environ. Sci. Technol.* 2006; 40:5276–5281.
- 80-Petersen, J. H., Breindahl, T., Plasticizers in total diet samples, baby food and infant formulae, *Food Addit. Contam.* 2000; 17:133–141.
- 81-Sorensen, L. K., Determination of phthalates in milk and milk products by liquid chromatography/tandem mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006; 20:1135–1143.
- 82-Fromme, H., Bolte, G., Koch, H. M., Angerer, J., *et al.*, Occurrence and daily variation of phthalate metabolites in the urine of an adult population, *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2007; 210:21–33.
- 83-Veeramachaneni DN. Impact of environmental pollutants on the male: effects on germ cell differentiation. *Anim Reprod Sci.* 2008; 105[1-2]:144-57
- 84-Hauser R. Urinary phthalate metabolites and semen quality: a review of a potential biomarker of susceptibility *Int J Androl.* 2008; 31[2]:112-7.
- 85-Svechnikova I, Svechnikov K, Söder O.- The influence of di-[2-ethylhexyl] phthalate on steroidogenesis by the ovarian granulosa cells of immature female rats. *J Endocrinol.* 2007; 194[3]:603-9.
- 86-Sinclair, E., Kim, S. K., Akinleye, H. B. & Kannan, K. . Quantitation of gas-phase perfluoroalkyl surfactants

- and fluorotelomer alcohols released from non-stick cookware and microwave popcorn bags. *Environmental Science and Technology* [2007] 41, 1180–1185.
- 87- Giesy, J. P. & Kannan, K. Perfluorochemical surfactants in the environment. *Environmental Science and Technology*. 2002; 36:147A–152A.
- 88- Shoeib, M., Harner, T., Ikononou, M. & Kannan, K. Indoor and outdoor air concentrations and phase partitioning of perfluoroalkyl sulfonamides and polybrominated diphenyl ethers. *Environmental Science and Technology*. 2004; 38:1313–1320.
- 89- Shoeib, M., Harner, T. & Zhu, J. [2007] Indoor air & dust concentration of fluorotelomer alcohols. *Organohalogen Compounds*. 2007; 69:146–149.
- 90- Shoeib, M., Harner, T., Wilford, B. H., Jones, K. C. & Zhu, J. Perfluorinated sulfonamides in indoor and outdoor air and indoor dust: Occurrence, partitioning, and human exposure. *Environmental Science and Technology*. 2005; 39:6599–6606.
- 91- Bossi, R., Riget, F. F., Dietz, R., Sonne, C., Fauser, P., Dam, M. & Vorkamp, K. Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochimicals in fish, birds and marine animals from Greenland and the Faroe Islands. *Environmental Pollution*. 2005; 136:323–329.
- 92- Smithwick, M., Muir, D. C. G., Mabury, S. A., Solomon, K., Martin, J. W., Sonne, C., Born, E. W., Letcher, R. J. & Dietz, R. Perfluoroalkyl contaminants in liver tissue from East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental Toxicology Chemistry*. 2005; 24:981–986.
- 93- Smithwick, M., Mabury, S. A., Solomon, K., Sonne, C., Martin, J. W., Born, E. W. *et al.* Circumpolar study of perfluoroalkyl contaminants in polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental Science and Technology*. 2005; 39:5517–5523.
- 94- Smithwick, M., Norstrom, R. J., Mabury, S. A., Solomon, K., Evans, T. J., Stirling, I., Taylor, M. K. & Muir, D. C. G. Temporal trends of perfluoroalkyl contaminants in polar bears (*Ursus maritimus*) from two locations in the North American Arctic, 1972–2002. *Environmental Science and Technology*. 2006; 40:1139–1143.
- 95- Betts, K. S. [2007] Perfluoroalkyl acids. What is the evidence telling us? *Environmental Health Perspectives*. 2007; 115:250–256.
- 96- Holm, M., Rajpert-De Meyts, E., Andersson, A. M. & Skakkebaek, N. E. [2003] Leydig cell micronodules are a common finding in testicular biopsies from men with impaired spermatogenesis and are associated with decreased testosterone / LH ratio. *Journal of Pathology*. 2003; 199:378–386.
- 97- Andersson, A. M., Jorgensen, N., Frydelund-Larsen, L., Rajpert-De Meyts, E. & Skakkebaek, N. E. Impaired Leydig cell function in infertile men: a study of 357 idiopathic infertile men and 318 proven fertile controls. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2004; 89:3161–3167.
- 98- Biegel, L. B., Liu, R. C. M., Hurtt, M. E. & Cook, J. C. [1995] Effects of ammonium perfluorooctanoate on Leydig cell function: in vitro, in vivo and ex vivo studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1995; 134:18–25.
- 99- Liu, K., Lehmann, K. P., Sar, M., Young, S. S. & Gaido, K. W. Gene expression profiling following in utero exposure to phthalate esters reveals new gene targets in the etiology of testicular dysgenesis. *Biology of Reproduction*. 2005; 73:180–192.
- 100- Shi, Z., Zhang, H., Liu, Y., Xu, M. & Dai, J. Alterations in gene expression and testosterone synthesis in the testes of male rats exposed to perfluorododecanoic acid. *Toxicological Sciences*. 2007; 98:206–215.
- 101- Skakkebaek, N. E., Rajpert-De Meyts, E. & Main, K. M. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Human Reproduction*. 2001; 16:972–978.
- 102- Fisher, J. S., Macpherson, S., Marchetti, N. & Sharpe, R. M. Human 'testicular dysgenesis syndrome': a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Human Reproduction*. 2003; 18:1383–1394.
- 103- Sharpe, R. M. Pathways of endocrine disruption during male sexual differentiation and masculinization. *Best Practice and Research. Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2006; 20:91–110.
- 104- Hallmark, N., Walker, M., McKinnell, C., Mahood, I. K., Scott, H., Bayne, R. *et al.* Effects of monobutyl and di[n-butyl] phthalate in vitro on steroidogenesis and Leydig cell aggregation in fetal testis explants from the rat: comparison with effects in vivo in the fetal rat and neonatal marmoset and in vitro in the human. *Environmental Health Perspectives*. 2007; 115:390–396.
- 105- Butenhoff, J. L., Gaylor, D. W., Moore, J. A., Olsen, G. W., Rodricks, J., Mandel, J. H. & Zobel, L. R. Characterization of risk for general population exposure to perfluorooctanoate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2004; 39:363–380.
- 106- Allan Astrup Jensen* and Henrik Leffers_ Emerging endocrine disruptors: perfluoroalkylated substances. *International journal of andrology*. 2008; 31:161–169.
- 107- Thuillier R, Manku G, Wang Y, Culty M. Changes in MAPK pathway in neonatal and adult testis following fetal estrogen exposure and effects on rat testicular cells. *Microsc Res Tech*. 2009 Jun 29.
- 108- Bredhult C, Sahlin L, Olovsson M. Gene expression analysis of human endometrial endothelial cells exposed to Bisphenol A. *Reprod Toxicol*. 2009 Jul; 28(1):18–25.
- 109- Marina Fernández, Maria Bianchi, Victoria Lux-Lantos, and Carlos Libertun. Neonatal Exposure to Bisphenol A Alters Reproductive Parameters and Gonadotropin Releasing Hormone Signaling in Female Rats. *Environmental Health Perspectives* • volume 117 #1 number 5 #1 May 2009