

CAPÍTULO 23

INTERFERENTES ENDÓCRINOS EM SISTEMAS AQUÁTICOS: ORIGEM, DISTRIBUIÇÃO E EFEITOS ECOTOXICOLÓGICOS

André Henrique Rosa, Renata Fracácio, Juliana Polloni Silva, Bruno Barboza Cunha & Leonardo Fernandes Fraceto

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de Sorocaba, Sorocaba, Brasil.
E-mail: ahrosa@sorocaba.unesp.br

RESUMO

Interferentes endócrinos (IE) representam uma classe emergente de contaminantes em sistemas aquáticos, que podem comprometer a vida da biota aquática e de seres humanos. Alteram o funcionamento do sistema endócrino bloqueando sítios receptores de células, aumentando a produção e/ou secreção de hormônios naturais, bem como interferindo no sistema reprodutor. Atualmente, as atividades industriais, agrícolas e municipais introduzem direta ou indiretamente produtos químicos, naturais ou sintéticos, nos corpos de água, onde os mesmos não são removidos pelos métodos convencionais de tratamento de água e esgoto. Há uma preocupação mundial de agências protetoras e pesquisadores no âmbito de desenvolver tecnologias que removam os IE das águas destinadas ao abastecimento público, evitando-se danos fisiológicos em longo prazo. Entretanto, é imprescindível conhecer melhor como se comportam estes compostos nos sistemas aquáticos desde sua origem, interação com a matéria orgânica presente, mobilidade nos sedimentos até a assimilação e efeitos causados na biota.

1 ATUAÇÃO BIOLÓGICA DOS INTERFERENTES ENDÓCRINOS

O sistema endócrino é o principal responsável pela comunicação química entre os órgãos e tecidos, o que ocorre por meio de mensageiros químicos denominados hormônios. Estes são transportados pelo sangue e atingem o tecido-alvo estimulando ou inibindo sua atividade biológica. Desta maneira, os processos fisiológicos, incluindo a reprodução, o crescimento, a homeostase, o comportamento e a disponibilidade energética, são regulados e coordenados pelo sistema endócrino (KRAAK et al., 1998).

Cada célula do tecido-alvo tem receptores hormonais em suas membranas ou em seus núcleos. Os receptores são proteínas que se ligam aos hormônios com elevada afinidade e sua função é dupla, tendo que reconhecer o hormônio e também transformar o sinal hormonal em resposta biológica (HANSON et al., 2005).

No entanto, compostos químicos naturais ou antrópicos, bem como os seus resíduos metabólicos, podem afetar o funcionamento normal do sistema endócrino em diferentes grupos animais. Estes compostos são conhecidos como químicos moduladores e interferentes endócrinos (KRAAK et al., 1998). Segundo Dickerson et al. (1998), existe uma diferença entre químicos moduladores e interferentes endócrinos. Os moduladores causam alterações endócrinas reversíveis e os efeitos não são considerados adversos. Já os interferentes provocam respostas endócrinas irreversíveis no sistema biológico.

A ação dos interferentes endócrinos ocorre pelo bloqueio, mimetização e estimulação ou inibição dos hormônios naturais. Geralmente eles alteram o estado homeostático dos hormônios e prejudicam sua interação com os receptores, interferindo no tipo de ligação do hormônio com o seu receptor ou alterando a sua síntese, estocagem, liberação, transporte, metabolismo e eliminação natural (HANSON et al., 2005). Assim, as funções reprodutivas, o desenvolvimento, o comportamento, a imunidade e a sobrevivência, de vários grupos animais, podem ser comprometidos por esse grupo químico (JOBLING; TYLOR, 2006).

Portanto, as substâncias em questão são consideradas estressores, uma vez que podem afetar a integridade das funções fisiológicas dos seres vivos e são responsáveis por desencadear alterações orgânicas, as quais requerem um maior gasto energético para que ocorram as adaptações fisiológicas necessárias (GIESY; SNYDER, 2003).

Os efeitos dos interferentes endócrinos sobre os organismos dependem da intensidade do estresse, do tempo de contato com o organismo, da frequência a que este organismo é exposto, da biologia, da fase de vida e da etapa do ciclo reprodutivo da espécie (KENDALL et al., 1998). As características dos fatores abióticos, como as propriedades físico-químicas das substâncias desreguladoras, bem como as condições ambientais em que elas se encontram, também influenciam a atuação sobre o funcionamento endócrino (TILLITTI et al., 1998).

Portanto, define-se um interferente endócrino (IE) como um agente exógeno que interfere com a síntese, secreção, transporte, recepção, ação ou eliminação dos hormônios naturais do corpo, os quais são responsáveis pela manutenção da homeostase, reprodução, desenvolvimento e comportamento (US-EPA, 1998). Como o sistema endócrino mantém a homeostase, todo agente estressante é um desregulador em potencial do sistema endócrino (GIESY; SYNDER, 2003).

2 INTERFERENTES ENDÓCRINOS EM AMBIENTES AQUÁTICOS

Atualmente, as atividades industriais, agrícolas e municipais introduzem direta ou indiretamente produtos químicos, naturais ou sintéticos, nos corpos de água. Segundo Mozeto; Zagatto (2008) a Sociedade Americana de Química mostrou que há aproximadamente 10 milhões de substâncias mencionadas na literatura científica. Desse total, somente 2 mil tem seus efeitos tóxicos conhecidos sobre os organismos vivos, embora 70 mil sejam usados diariamente.

Esse fato leva à suposição de que muitos dos efeitos desreguladores nos organismos aquáticos ainda são desconhecidos. Corroborando com essa idéia, Thacker (2005) estima que

aproximadamente 87.000 substâncias antrópicas podem agir como interferentes endócrinos (IE) sobre organismos aquáticos.

Em 2001, a Comissão da União Européia para Avaliação de Substâncias Potencialmente Desreguladoras Endócrinas, divulgou uma lista com 553 substâncias e 9 hormônios (naturais e sintéticos), na tentativa de avaliar a dimensão do problema.

Segundo Santamarta (2001), os EUA dispõem de 30 milhões de dólares em 400 projetos para avaliar os efeitos das substâncias químicas no sistema endócrino. O objetivo da EPA (Agência de Proteção Ambiental Norte Americana) é desenvolver uma estratégia para pesquisar os efeitos de 600 agrotóxicos e de 72.000 substâncias químicas de uso comercial nos EUA.

Sodré et al., (2007) destacam que atualmente, os principais grupos potenciais de substâncias consideradas IE no meio aquático são: a) os plastificantes (ftalatos e bisfenol-A); b) os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA); c) as Bifenilas Policloradas; d) os Pesticidas; e) os Estrogênios Naturais e Artificiais e d) os Retardantes de Chamas Bromados. Segundo os autores, tais substâncias atingem os corpos de água por meio de fontes pontuais e difusas de poluição, tornando o problema crônico nestes ambientes.

Petrovic et al., (2001), relatam que os hormônios sexuais esteróides, naturais e artificiais, adentram os ambientes aquáticos com maior frequência por meio dos efluentes domésticos, uma vez que são excretados pela urina e fezes, em maiores concentrações, por mulheres gestantes (Tabela 1).

Apesar de possuírem a meia-vida relativamente curta (quando comparados a outros compostos orgânicos de ação desreguladora endócrina) os estrógenos naturais e sintéticos são continuamente introduzidos nos ambientes aquáticos o que lhes confere um caráter de persistência (REIS FILHO et al., 2006) (Tabela 2).

Tabela 1: Excreção diária (μg) de esteróides estrogênicos em humanos

Categoria	Excreção			
	E1	E2	E3	EE2
Machos	3,9	1,6	15	-
Mulheres em menstruação	8	3,5	4,8	-
Mulheres em menopausa	4	2,3	1	-
Mulheres grávidas	600	259	6000	-
Mulheres que utilizam anticoncepcionais	-	-	-	35

Legenda: E1 – Estrona, E2 - 17 β -Estradiol, E3 – Estriol, EE2 - 17 -Ethinilestradiol. Fonte: Johnson et al. (2000).

Tabela 2: Característica dos principais estrógenos em águas superficiais

Estrógeno	CAS-no	Fórmula	Pressão de vapor (mmHg)	Meia-vida (dias)	Autores
E2	50-28-2	C ₁₈ H ₂₄ O ₂	2,3x10 ¹⁰	0,2 -9	JURGENS et al. (2002)
E1	53-16-7	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	2,3x10 ¹⁰	2-3	YING et al. (2002)
E3	50-27-1	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	6,7x10 ¹⁵	N.R.	-
EE2	57-63-6	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	4,5x10 ¹¹	4-6	YING et al. (2002)

Legenda: E1 – Estrona, E2 - 17 β -Estradiol, E3 – Estriol, EE2 - 17 -Ethinilestradiol, N.R. – Não relatado.

Em ambientes brasileiros, os trabalhos com interferentes endócrinos são escassos. Dentre eles, destacam-se Sodré et al., (2007), que avaliaram alguns compostos emergentes em rios da região metropolitana de Campinas-SP e detectaram com maior frequência nas amostras, o di-n-butilftalato (78%), a cafeína (61%), o bisfenol-A (33%), o 17 β -estradiol (28%) e o 17 α -etinilestradiol (23%). Para alguns interferentes as variações nas concentrações foram pequenas (di-n-butilftalato - 6,75 a 9,75 $\mu\text{g L}^{-1}$; cafeína – 8,46 a 13,1 $\mu\text{g L}^{-1}$). Para outras, houve uma variação considerável entre os valores máximos e mínimos, como para o 17 α -etinilestradiol (EE2) (0,006 a

0,31 $\mu\text{g L}^{-1}$) e para o 17 β -estradiol (0,038 a 2,51 $\mu\text{g L}^{-1}$). Tais variações foram atribuídas pelos autores às condições pluviométricas em diferentes períodos de amostragem e diferenças nos lançamentos pontuais de esgotos domésticos. Os autores concluíram que se torna necessário o desenvolvimento de tecnologias que removam os IE das águas destinadas ao abastecimento público, evitando-se danos fisiológicos em longo prazo.

Na região de Dourados (MS), a análise das águas em rios inseridos em regiões de forte influência rural, também foi detectada a presença de estrógenos, com destaque para o Estriol que teve a faixa de concentração variando entre 3,3 e 113 ng L^{-1} . Estes resultados representaram uma preocupação e uma necessidade do estudo da atuação de interferentes endócrinos sobre a biota aquática, na região (ZOCOLO et al., 2010).

Com a intenção de se desenvolverem métodos para detectar poluentes em concentrações na ordem de ng L^{-1} , em águas de ambientes naturais, Sodré et al., (2010b) detectaram em pontos de rios localizados na Bacia do rio Atibaia – SP, concentrações para substâncias estrogênicas variando entre 2,2 a 39 ng L^{-1} e para bisfenol-A, uma amplitude de variação entre 24 e 84 ng L^{-1} . Em águas da região de Campinas, concentrações expressivas de vários interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos têm sido encontradas, sendo que para EE2 em águas superficiais, as concentrações variaram de 1,2 a 3,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e em água potável essa faixa de concentração foi obtida entre 1,6 e 1,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ (GHISELLI, 2006).

REIS FILHO (2008) investigando a qualidade das águas do rio Monjolinho (São Carlos-SP), detectou um valor mínimo de 11,4 ng L^{-1} e um valor máximo de 33,51 ng L^{-1} para EE2, acima do valor recomendado na literatura internacional para esse tipo de sistema aquático ($< 10 \text{ ng L}^{-1}$), descrito em Kuster et al., (2005). No entanto, o autor destaca que os valores obtidos foram condizentes com a situação desse rio por receber esgoto *in natura*, corroborando com outros trabalhos em situação de influência antrópica semelhante.

Considerando-se a elevada frequência com que os hormônios naturais e sintéticos são lançados em corpos receptores, por meio de efluentes domésticos, há uma maior preocupação de sua atuação na fauna aquática bem como na saúde humana, e têm sido mais frequentemente estudados em sistemas aquáticos ao redor do mundo.

Nas Tabelas 3 e 4, encontram-se dados comparativos de concentrações obtidas para alguns hormônios naturais, sintéticos e compostos químicos com potencial para alterar as condições endócrinas, em águas superficiais de rios, em diferentes países e no Brasil.

Tabela 3: Concentrações (ngL^{-1}) de interferentes endócrinos obtidos em diferentes países em águas superficiais de sistemas lóticos

IE (ng L^{-1})	Países					
	Alemanha ^a	Espanha ^b	Japão ^c	Itália ^c	França ^d	Holanda ^e
4-nonilfenol	32	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
4-tetra-octifenol	7,3	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Bisfenol-A	4,7	0,295	4-230	N.A.	N.A.	N.A.
Estrona	0,7	21,7	N.A.	0,33	1,1-3,0	0,1 – 3,4
17 α -estradiol	0,6	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
17 β -estradiol	0,6	ND	2,1	0,11	1,4 - 3,2	0,3 – 5,5
17 α -etinilestradiol	0,8	ND	N.A.	0,04	1, – 2,9	0,1 – 4,3
Paracetamol	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
D-n-butiltalato	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

Legenda: IE – Interferentes endócrinos; N.A. – Não analisado; **a**- KUCH; BALLSCHMITER (2001); **b** - RODRIGUEZ-MOZAZ et al., (2004); **c**- YING et. al., (2002); **d**- CARGOUET et. al., (2004) e **e** –HANNAH et al., (2009).

Comparando-se os dados listados na Tabela 3 e 4, as concentrações obtidas em rios brasileiros se destacaram. Nessa comparação é preciso considerar as diferentes condições climáticas, quantidade de amostragens e métodos utilizados para a obtenção dessas concentrações.

No entanto os dados refletem o problema e a precariedade do saneamento básico no Brasil. Considerando-se o tratamento de esgoto, em algumas cidades do estado de São Paulo este serviço já foi implantado ou está em fase de implantação. No entanto a dimensão do problema ainda é extremamente grande. Assim, tanto a biota aquática quanto a população humana estão expostos a esses contaminantes, havendo a necessidade urgente da sua compreensão e dinâmica, para gerar dados que embasem e protejam a saúde ambiental e humana, em termos legais.

A título de exemplo da realidade brasileira, considerando que 18,7 milhões de habitantes da Região Metropolitana de São Paulo (RMSP) são contemplados com água tratada e que a população equivalente à quantidade de esgoto coletado e tratado seja de 8,44 milhões de habitantes (POMPÊO; MOSCHINI-CARLOS, 2012), em população equivalente, o esgoto lançado sem tratamento representa 10 milhões de habitantes, ou aproximadamente 53% dos habitantes da RMSP. Esses fatos, segundo esses autores, demonstram que o sistema de tratamento de esgoto da RMSP, trabalhando com a máxima vazão de projeto, ao menos deve ser duplicado, unicamente permitindo atender a atual demanda.

Nesse contexto, Johnson e Sumpter (2001) revisaram trabalhos que avaliaram a remoção de interferentes endócrinos em tratamentos de lodos ativados e sugeriram que esse processo de tratamento de esgoto pode remover consistentemente 85% de E2, E3 e EE2. No entanto, a remoção de Estrona (E1) parece ser menor e mais variável.

Tabela 4: Concentrações (ng L^{-1}) de interferentes endócrinos obtidos em diferentes estados brasileiros em águas superficiais de sistemas lóticos

IE (ng L^{-1})	Estados						
	SP ^a	SP ^b	SP ^c	RJ	PR	MG	RS
4-nonilfenol	N.D.	218	N.D.	N.A.	N.A.	40,1 - 1918,2	N.A.
4-tetra-octifenol	N.A.	1029	N.D.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Bisfenol-A	5,0 -380	139 – 11725	25 - 84	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Estrona	N.A.	N.D.	2,4 - 39	3,03 - 24,62	120 - 1800	N.A.	6,2 - 541,4
17 α -estradiol	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
17 β -estradiol	38 - 2510	106 – 6806	<0,6 - 7,3	3,23 - 23,12	170 - 13450	4,1 - 36,8	29 - 46,2
17 α -etinilestradiol	6,0 - 310	106 – 4390	N.D. - 25	1,92 – 27,18	160 - 5900	3 - 54	N.D.
Paracetamol	840	280 – 13440	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<i>D-n-butilftalato</i>	4630 - 21500	9342 – 7414	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.

Legenda: IE – Interferentes endócrinos; N.A. – Não analisado; N.D. – Não detectado; SP^a – SODRÉ et al., (2007); SP^b – RAIMUNDO (2007); SP^c – SODRÉ et al., (2010b); RJ - LUCENA (2013); PR – MACHADO (2010); MG – MOREIRA (2009); RS - DALLEGRAVE (2012).

Comparando-se águas de abastecimento da região metropolitana de Campinas e da região Sul da Alemanha (Tabela 5) observa-se valores mais elevados no Brasil, próximo às concentrações encontradas em águas superficiais, evidenciando-se novamente o problema de saneamento, condição que se reflete ao longo do país. Além das condições sanitárias, os efluentes industriais e fontes difusas de poluição devem ser avaliados e monitorados, uma vez que resíduos de bisfenol-A têm sido encontrados com elevada frequência e em grandes concentrações.

O destino dos IE no ambiente depende de suas características físicas e químicas além das propriedades do meio no qual ele será introduzido. No ambiente aquático, a temperatura, luminosidade, turbidez, pH, alcalinidade, oxigênio dissolvido, radiação, matéria orgânica, microfauna e outras variáveis presentes no sistema, atuam diretamente no transporte e transformação dessas substâncias, nos compartimentos água, sedimento e biota, determinando o seu destino e atuação (MATHIESSEN, 2013). Lai (2000) enfatiza que em águas superficiais a adsorção de estrógenos está fortemente relacionada com a concentração de carbono orgânico e com a concentração de salinidade da água.

Considerando-se os fatores ambientais que podem influenciar na atividade dos IE no meio aquático, é importante ressaltar as substâncias húmicas aquáticas (SHA) que são os principais

agentes complexantes naturais presentes em águas e em sedimentos (ROSA et al., 2007; ROCHA; ROSA, 2003). Porém, ainda são poucos os estudos existentes na literatura que associam a influência dessas substâncias no transporte e biodisponibilidade de IE no ambiente (SUN et al., 2006; SUN et al., 2007). A caracterização das interações dos IE com as SHA pode levar a importantes informações relacionadas à disponibilidade dos IE para a biota aquática, por meio da verificação de formação e caracterização da estabilidade de possíveis complexos IE-SHA (ROSA, 2008).

Tabela 5: Comparação de concentrações (ng L^{-1}) de alguns interferentes endócrinos em águas destinadas ao abastecimento público na região sul da Alemanha e região sudeste do Brasil

IE (ng L^{-1})	Países	
	Alemanha ¹	Brasil ²
4-nonilfenol	32	218
4-tetra-octifenol	7,3	1029
Bisfenol-A	4,7	139 - 11725
Estrona	0,7	N.D.
Caféina	N.A.	73900
17 β -estradiol	38 - 2510	106 - 6806
17 α -etinilestradiol	6,0 - 310	106 - 4390
Paracetamol	840	280 - 13440
D-n-butiltalato	4630 - 21500	9342 - 7414

Legenda: IE – Interferentes endócrinos; NA – Não analisado; N.D. – Não detectado; 1 – KUCH; BALLSCHMITER (2001); 2 – RAIMUNDO (2007).

A capacidade de complexação das SHA pode se traduzir em detoxificação, quando os efeitos negativos de uma determinada substância anulam-se ou são reduzidos (ROSA et al., 2002; ROCHA et al., 2003). Em alguns casos, a interação entre SHA e xenobióticos pode acarretar em incremento da toxicidade, tanto para efeitos agudos quanto crônicos (STEINBERG, 2003).

Estudo realizado por Botero et al., (2011) sobre o comportamento de IE (Bisphenol-A e 17 α -etinilestradiol) diante da interação com substâncias húmicas aquáticas extraídas da água de dois rios brasileiros, sendo um deles localizado em área de proteção ambiental no município de Bertioga-SP (rio Itapanhaú) e o outro localizado na Estação Ecológica da Juréia (rio Ribeira do Iguape), observaram que a disponibilidade desses IE está diretamente relacionada com a presença da SHA. Portanto os autores concluíram que o estudo dessa interação é vital para a compreensão do transporte e reatividade desse tipo de contaminante no meio ambiente aquático.

Considerando-se os sedimentos, Aragão e Araújo (2008) descrevem esse compartimento como uma das matrizes mais complexas presentes no ambiente aquático, constituído tipicamente de uma mistura de argila, areia, sais minerais e matéria orgânica.

De acordo com Mozetto; Zagatto (2006), os materiais dissolvidos e particulados, de natureza orgânica e inorgânica, que adentram um ambiente aquático, invariavelmente se associam por meio de processos de superfície (adsorção, complexação e reprecipitação) aos particulados suspensos preexistentes e que tendem a se decantar, fazendo parte dos sedimentos. Assim, dependendo das condições ambientais desse compartimento e das propriedades dos interferentes, os sedimentos podem ser o destino temporário.

Nesse sentido, Ying; Kookana (2005) ao avaliarem a degradação de interferentes endócrinos (17 β -estradiol (E1), 17 α -etinilestradiol (EE2), bisfenol-A (BPA), Estrona (E1), Estriol (E3) e 4-n-nonil-fenol (4-n-NP) em 4 tipos de sedimentos, com características físico-químicas diferentes, observaram que em solos argilosos houve uma grande adsorção principalmente para o EE2. Nos solos com características aeróbicas, houve um tempo de meia vida rápida, de no máximo 7 dias, considerando-se todos os interferentes em estudo. Ao contrário, em solos com características anaeróbicas durante 70 dias de estudo, a degradação ocorreu de maneira muito lenta, com exceção de E2, para o qual o tempo de meia vida foi de 24 dias. Os autores concluíram que sob condições de

solos em anaerobiose, os IE representam um grande risco inclusive para a qualidade da coluna de água, uma vez que podem se tornar biodisponíveis.

Averiguando o comportamento de estradiol e etinilestradiol em sedimentos de rios ingleses, Holthaus et al., (2002) concluíram que a maior correlação dessa ligação foi com os sedimentos de menor tamanho. Ainda observaram que tanto em condições aeróbicas como em condições anaeróbicas, o 17 α -etinilestradiol (EE2) foi o mais persistente neste compartimento e se biodisponibilizou com maior facilidade. Assim os autores recomendaram que fosse dada maior atenção aos estudos com esse interferente, em ambientes naturais.

Cunha et al., (2011), avaliaram a sorção de quatro IE (bisfenol-A, estrona, 17 α -estradiol e 17 β -etinilestradiol) em amostras de sedimentos da Represa de Guarapiranga-SP, com diferentes teores de matéria orgânica (MO). Os experimentos foram conduzidos sob diferentes condições de pH, tempo e quantidade de amostra de sedimento. Os dados obtidos mostraram que houve uma maior interação entre os IE e as amostras estudadas em valores de pH mais baixo (pH=3). Avaliaram também a cinética da sorção, sendo mais lenta para as amostras com maior teor de MO. Em sedimentos com maiores teores de matéria orgânica, a interação dos IE deram-se na seguinte ordem EE2>> E2> E> BPA, corroborando com os dados de Sun et al., (2007). Esses estudos constituem um importante meio de compreender a mobilidade, transporte e / ou reatividade destes tipos de contaminantes emergentes em sistemas aquáticos.

Ainda, a influência das substâncias húmicas em sedimentos de ambientes aquáticos, na sorção de determinados interferentes endócrinos (17 α -etinilestradiol, bisfenol-A e 17 β -estradiol) foi estudada por Sun et al., (2007) que encontraram uma forte correlação positiva entre os IE e a abundância de anéis aromáticos da estrutura da matéria orgânica.

Portanto, diante das variáveis ambientais que podem direcionar o comportamento dos poluentes em sistemas aquáticos, bem como a diversidade de substâncias com potencial para agirem como desreguladoras endócrinas, muitas lacunas devem ser investigadas por meio de pesquisas cujas conclusões poderão servir para melhor compreender os riscos ambientais e propor ações de remediação da condição prevalecente nos corpos de água brasileiros.

3 EFEITOS POTENCIAIS DE INTERFERENTES ENDÓCRINOS SOBRE A BIOTA AQUÁTICA: ÊNFASE EM ESTUDOS ECOTOXICOLÓGICOS COM PEIXES

Considerando-se o equilíbrio dos ecossistemas aquáticos e a saúde ambiental, a principal preocupação com os compostos químicos desreguladores é a capacidade dessas substâncias afetarem a reprodução das espécies e interferirem no desenvolvimento saudável da prole (MANAHAN, 2003).

Embora vários estudos identifiquem os efeitos de substâncias desreguladoras em condições de laboratório, a sua relevância ecológica ainda não é bem compreendida. Para isso, seria necessário que os estudos laboratoriais se baseassem nas condições de campo (JOBILING; TAYLOR, 2006).

Atualmente, concentrações relativamente altas de desreguladores são utilizadas para caracterizar seus efeitos biológicos em estudos de laboratório, entretanto as concentrações desses poluentes são, normalmente, muito baixas nos ambientes aquáticos, em condições naturais. Assim, o conhecimento da exposição natural de peixes a concentrações reais de químicos desreguladores endócrinos é essencial para avaliar adequadamente a relação exposição- resposta, em estudos de campo, para que a análise de risco seja confiável (DIETRICH; KRIEGER, 2009).

Ainda, segundo Gurney et al., (2003), nos estudos em laboratório é preciso ter o cuidado de identificar as modificações desencadeadas nos indivíduos, que estão sendo expostos a um desregulador, e que de fato podem ter implicações nas condições de sobrevivência e perpetuação das populações naturais.

Em ambientes de água doce, a maior quantidade de estudos ecotoxicológicos com IE são com os peixes pela ampla quantidade de dados literários sobre a biologia dos mesmos, o que facilita a interpretação das respostas obtidas. As alterações mais comuns descritas incluem: diminuição da fertilidade e da produção de ovos pelas fêmeas; redução no tamanho das gônadas de peixes machos

e fêmeas; feminização de machos e defeminização das fêmeas; indivíduos intersexos; aumento na concentração de vitelogenina nos machos (lipoglicoproteína comum em fêmeas por ser precursora do vitelo para produção de ovos); diminuição da imunidade; aumento na mortalidade de embriões e aumento de ocorrência de deformidades corporais e histopatologias (KIRBY et al., 2004, DIETRICH; KRIEGER, 2009).

Considerando-se a importância da avaliação histopatológica em gônadas de peixes, afetadas por químicos potencialmente desreguladores endócrinos, a OECD (Organisation For Economic Co-Operation And Development) publicou um documento específico para esse diagnóstico, no ano de 2010 (OECD, 2010).

Na maioria das espécies de peixes, testes durante todo o ciclo de vida são caros, difíceis de serem mantidos e exigem muito tempo para a avaliação de respostas que muitas vezes precisam ter uma rápida interpretação. Assim, algumas fases do ciclo de vida dos organismos-teste, normalmente as mais sensíveis, são utilizadas para avaliar efeitos de produtos químicos ou amostras ambientais.

Nas larvas ou juvenis, os efeitos considerados podem ser o crescimento, as deformidades e as alterações bioquímicas enquanto na fase adulta, os destaques são para as anormalidades reprodutivas. Neste contexto, Lamb et al., (1998) consideram ser de importância crucial a análise histológica para avaliar as condições de intersexo, tamanho e anormalidades dos ovos, tamanho e peso das gônadas, anormalidades nas células testiculares e na produção de espermatozoides, além da morfologia dos órgãos endócrinos.

Van Der Ven et al., (2003), discutem que os eventos moleculares desencadeados pelas atividades hormonais têm efeitos na morfologia de células, tecidos e órgãos de peixes. As alterações apresentam íntima associação com os desreguladores hormonais sobre o sistema biológico. As mudanças histológicas detectadas, por exemplo, nas gônadas de peixes podem ser um indicativo do comprometimento da saúde da espécie em determinada condição, e conseqüentemente uma predição da saúde da população desta mesma espécie, em condições ambientais.

Assim, para melhor interpretação dos problemas ambientais sobre a biota é necessária a associação de vários métodos que forneçam respaldo para compreender o funcionamento dos seres vivos frente a uma nova condição ambiental.

Nesse contexto, segundo Hutchinson et al., (2006), os biomarcadores, definidos como uma mudança nas respostas biológicas que podem estar relacionadas com o efeito da exposição a algum composto químico, têm sido utilizados para avaliar a ação de químicos desreguladores endócrinos em peixes. O uso integrado de biomarcadores como hormônios esteróides do plasma, análise de vitelogenina (VTG) por diferentes métodos (histoquímica, método ELISA), histologia de gônadas e imunohistoquímica, têm propiciado um avanço no entendimento da toxicidade reprodutiva em laboratório e em campo.

A vitelogenina (VTG) é uma glico-fosfo-lipoproteína de alta massa molecular (de 170 a 200 kDa, dependendo da espécie) sintetizada nos hepatócitos sob controle multi-hormonal: a transcrição de seu RNAm é ativada por estrógenos, principalmente o 17 β -estradiol (E2) após ligação com o receptor nuclear (RE). A VTG é o principal constituinte do vitelo de vertebrados ovíparos, sendo liberada no sangue (após exocitose nos hepatócitos) e incorporada pelo oócito sob controle da gonadotrofina I (em peixes). A expressão hepática da VTG, ou a supressão da mesma por fatores exógenos (xenobióticos ou xenoestrógenos) têm sido usadas em peixes como indicadores de efeitos (anti)estrogênicos, ou seja, estrogênicos em machos e jovens, ou anti-estrogênicos em fêmeas, respectivamente (COSTA, 2006).

De um modo geral, o gene da VTG também está presente em organismos machos, mas sob condições normais não é expressivo, possivelmente, pela baixa concentração de estrogênio no sangue. O aumento de VTG no plasma de um organismo macho é considerado uma evidência da exposição a substâncias com atividade estrogênica (HUTCHINSON et al., 2006).

Ainda segundo Dietrich; Krieger (2009), existe uma relação entre indução de VTG e falência do fígado em peixes adultos. As análises histológicas e histoquímicas podem contribuir de maneira eficiente e rápida para detectar alterações teciduais. Assim o conjunto de ferramentas deve ser

utilizado para a previsão de possíveis efeitos de químicos desreguladores endócrinos sobre os organismos.

Em outros grupos de organismos os efeitos dos desreguladores são mais difíceis de serem avaliados em decorrência da escassez de conhecimentos fisiológicos. No entanto, em revisão sobre os efeitos adversos de IE sobre invertebrados de água doce, pela revista *Ecotoxicology* (2007) foi destacada a necessidade da compreensão da atuação destas substâncias no referido grupo diante dos fatos: 1- os invertebrados aquáticos constituem a maior parte da biodiversidade animal e foram ignorados na avaliação de IE nos últimos 20 anos; 2- são de extrema relevância ecológica, considerando o equilíbrio trófico dos ambientes aquáticos e 3- são de elevada aplicabilidade comercial, destacando-se como fontes protéicas em piscicultura (SEGNER et al., 2003; WELTJE; OEHLMANN, 2007).

Recentemente, o organismo epibentônico, *Hyalella azteca*, um amphipoda de água doce, foi recomendado em norma internacional (US-EPA, 2000) e nacional (ABNT, 2007) para avaliação da toxicidade de sedimentos, em função do ciclo de vida curto, fácil adaptação e manutenção em laboratório a baixo custo, por apresentarem dimorfismo sexual e reprodução sexuada e pelas fêmeas produzirem ovos, sendo dotadas de gene para VTG. Estas características permitem avaliar a sobrevivência, crescimento, reprodução, e as mesmas avaliações por diferentes gerações, que são critérios recomendados para avaliação ecotoxicológica de IE, normalmente avaliadas para peixes.

Wang et al., (2005), avaliando biomarcadores em potencial para a compreensão dos efeitos de químicos considerados IE, em *Daphnia magna*, concluíram que de 18 substâncias testadas, quatro tinham potencial para desencadear a produção de um hormônio (metil farnesoate) relacionado com desenvolvimento de organismos machos, o que normalmente só ocorre em condições desfavoráveis para este grupo. Portanto, os autores concluíram que a avaliação do hormônio é um biomarcador em potencial para ser avaliado em exposição crônica de invertebrados a IE.

Dahms et al., (2011), destacam a importância de rotíferos na avaliação de químicos estrogênicos em decorrência da alteração da expressão gênica e consequentes alterações em hormônios juvenis associados ao crescimento. Recomendam ainda o uso de espécies do gênero *Brachionus*, em função da grande base de dados sobre expressões gênicas relacionadas à exposição de substâncias tóxicas.

Diante do exposto, os ensaios ecotoxicológicos com métodos padronizados utilizando diferentes organismos-teste, devem ser aplicados na avaliação da dose resposta à IE. No entanto, além das metodologias triviais é necessário que pesquisas sejam realizadas na busca de novas respostas eficientes que assegurem como ferramentas adicionais, a proteção da vida aquática. É preciso explorar as ferramentas múltiplas de biomarcadores para compreender o modo de ação dos IE em grupos de diferentes níveis tróficos.

4 CONCLUSÕES

Não só no Brasil, mas no mundo todo as preocupações com o destino e atuação de substâncias potencialmente estrogênicas, tanto considerando-se a biota aquática e a sua proteção, bem como os reflexos sobre a saúde humana, estão em evidência.

Novas tecnologias de detecção e remoção desses elementos que podem atuar em nano concentrações a longos períodos de exposição, estão sendo investigadas e aplicadas na tentativa de minimizar a exposição, e consequentemente, os potenciais riscos intrínsecos.

Apesar dos esforços e dos trabalhos de qualidade e aplicabilidade que têm sido gerados nos estudos sobre as substâncias que interferem no sistema endócrino, muitas lacunas e a falta de compreensão dos fatores que determinam o comportamento desses elementos nos diferentes compartimentos ambientais, precisam ainda de muitos esforços investigativos para que possam ser geradas ações de remediação ou de prevenção nos ecossistemas aquáticos.

Nesse sentido, é imprescindível a associação dos conhecimentos e tecnologias desenvolvidas em diferentes áreas do conhecimento, com a ecotoxicologia aquática, ciência que estuda os efeitos adversos das substâncias químicas sobre os organismos vivos. Desta forma, as respostas biológicas

complementam as análises químicas, tornando esses estudos interdisciplinares, mas preditivos e protetivos voltados para a saúde ambiental.

REFERÊNCIAS

- ABNT. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15470**: ecotoxicologia aquática – toxicidade em sedimento – método de ensaios com *Hyalella* spp (Amphipoda). Rio de Janeiro, 2007.
- ARAGÃO, M. A.; ARAÚJO, R. P. A. Métodos de ensaios de toxicidade com organismos aquáticos. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia aquática**: princípios e aplicações. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2008. p. 117-152.
- BOTERO, W. G. et al. Characterization of the interactions between endocrine disruptors and aquatic humic substances from tropical rivers. **J. BRAZ. CHEM. SOC.**, São Paulo, v. 22, n. 6, p. 1103-1110, jun. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-50532011000600015&lng=es&nrm=iso>. Acesso em: 03 nov. 2014.
- CARGOUET, M.; PERDIZ, D.; MOUATASSIM-SOUALI, A.; TAMISIER-KAROLAK, S.; LEVI, Y. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris área (France). **Science of the Total Environment**, v. 324, n. 1-3, p. 55-66, 2004.
- COSTA, J. R. M. A. **Padronização de metodologias para o uso de biomarcadores de contaminação ambiental em traíra (*Hoplias malabaricus*, *Erythrinidae*): -Alad, etalotioneína e vitelogenina**. 2006. 132 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- CUNHA, B. B.; BOTERO, W. G.; OLIVEIRA, L. C.; GOVEIA, D.; CARLOS, V. M.; POMPÊO, M. L. M.; FRACETO, L. F.; ROSA, A. H. Kinetics and adsorption isotherms of bisphenol A, estrone, 17 -estradiol and 17 -ethinylestradiol in tropical sediment samples. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 223, p. 329-336, Jan. 2012.
- DAHMS, H. U; HAGIWARA, A.; LEE, J. S. Ecotoxicology, ecophysiology, and mechanistic Studies with rotifers. **Aquatic toxicology**, v. 101, n. 1, p. 1-12, Jan. 2011.
- DALLEGRAVE, A. **Determinação de hormônios estrógenos e progestágenos em amostras ambientais por GC-MS**. 2012. 112 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.
- DICKERSON, R. L.; BROWER, A.; GRAY, L. E.; GROTHE, D. R.; PETERSON, R. E.; SHEEHAN, D. M.; WIEDOW, M. A. Dose-response relationship. In: KENDALL, R.; DICKERSON, R.; GIESY, J.; SUK, W. (Eds.). **Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife**. Brussels: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1998. p. 69-96.
- DIETRICH, D. R.; KRIEGER, H. O. **Histological analysis of endocrine disruptive effects in small laboratory fish**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2009. p. 1-341.
- GHISELLI, G. **Avaliação da qualidade das águas destinadas ao abastecimento público na região de Campinas: ocorrência e determinação dos interferentes endócrinos (IE) e produtos farmacêuticos e de higiene pessoal (PFHP)**. 2006. 181 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, 2006.
- GIESY, J. P.; SNYDER, E. M. Xenobiotic modulation of endocrine function in fishes. In: KENDALL, R.; DICKERSON, R.; GIESY, J.; SUK, W. **Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife**. Brussels: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1998. p. 155-237.
- GURNEY, W. S. C. Modeling the themographic effects of endocrine disruption. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. suppl., p. 40-50, 2006.
- HANSON, N.; ABGER, P.; SUNDELOF, A. Population-level effects of male-biased broods in eelpout (*Zoarce viviparous*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 5, p. 1235-1241, 2005.
- HOLTHAUS, K.I.E., JOHNSON, A.C., JURGENS, M.D., WILLIAMS, R.J., SMITH, J.J.L., CARTER, J.E. The potential for estradiol and ethinylestradiol to sorb to suspended and bed sediments in some English rivers. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 12, p. 2526-2535, 2002.

- HUTCHINSON, T. H.; ANKLEY, G. T.; SEGNER, H.; TYLER, C. R. Screening and testing for endocrine disruption in fish – biomarkers as signposts not traffic lights in risk assessment. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. suppl., p. 106-114, 2006.
- JOBLING, S.; TYLER, C. R. Introduction: the relevance of chemically induced endocrine disruption in wildlife. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. suppl., p. 7-8, 2006.
- JOHNSON, A. C.; BELFROID, A.; DI CORCIA, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatments works and observations on their removal from the effluent. **Science of the Total Environment**, v. 256, n. 2-3, p. 163-173, 2000.
- JOHNSON, A. C.; SUMPTER, J. P. Removal of endocrine-disrupting chemicals in activated sludge treatment works. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 24, p. 4697-4703, 2001.
- JURGENS, M. D.; HOLTHAUS, K. I. E.; JOHNSON, A. C.; SMITH, J. J. L. The potential for estradiol and ethynilestradiol degradation in English rivers. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 480-488, 2002.
- KENDALL, R. J.; BROUWER, A.; GIESY, J. P. A risk-based field and laboratory approach to assess endocrine disruption in wildlife. In: KENDALL, R.; DICKERSON, R.; GIESY, J.; SUK, W. **Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife**. Brussels: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1998. p. 1-16.
- KIRBY, M. F.; ALLEN, Y. T.; DYER, R. A.; FEIST, S. W.; KATSIADAKI, I.; MATTHIESSEN, P.; SCOTT, A. P.; SMITH, A.; STENTIFORD, G. D.; THAIN, J. E.; THOMAS, K. V.; TOLHURST, L.; WALDOCK, M. J. Surveys of plasma vitellogenin and intersex in male flounder (*Platichthys Flesus*) as measures of endocrine disruption by estrogenic contamination in United Kingdom Estuaries: temporal trends, 1996 to 2001. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 23, n. 3, p. 748-758, 2004.
- KRAAK, G. V. D.; ZACHAREWSKI, T.; JANZ, D. M.; SANDERS, B. M.; GOOCH, J. W. Comparative endocrinology and mechanisms of endocrine modulation in fish and wildlife. In: KENDALL, R.; DICKERSON, R.; GIESY, J.; SUK, W. **Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife**. Brussels: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1998. p. 97-119.
- KUCH, H. M.; BALLSCHMITER, K. Determination of endocrine disruption phenolic compounds and estrogens in surface and drinking water by HRCG – (NCL) – MS in the picogram per liter range. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 15, p. 3201-3206, 2001.
- KUSTER, M.; DE ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Estrogens and progestogens in wastewater, sludge, sediments and soil. In: BARCELÓ, D. (Ed.). **The handbook of environmental chemistry**. Dordrecht: Springer, 2005. v. 5, p. 1-24.
- LAI, K. M.; JOHNSON, K. L.; SCRIMSHAW, M. D.; LESTER, J. N. Binding of waterborn steroid estrogens to soil phases in river and estuarine systems. **Environmental Science and Technology**, v. 34, n. 18, p. 3890-3894, 2000.
- LAMB, J. C.; BALCOMB, R.; BENS, C. M.; COOPER, R. L.; GORSUCH, J. W.; MATHIESSEN, P.; PEDEN-ADAMS, M. M.; VOIT, E. O. Hazard identification and epidemiology. In: KENDALL, R.; DICKERSON, R.; GIESY, J.; SUK, W. **Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife**. Brussels: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1998. p. 17-37.
- LUCENA, W. S. **Determinação de estrogênios em afluentes da lagoa de Araruama – RJ**. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente) - Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz, Rio de Janeiro, 2013.
- MACHADO, K. S. **Determinação de hormônios sexuais femininos na bacia do Alto Iguaçu, região metropolitana de Curitiba-PR**. 2010. 102 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Recursos Hídricos e Ambiental) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.
- MANAHAN, S.E. **Toxicological Chemistry and Biochemistry**. 3 ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2003. 425 p.
- MATHIESSEN, P. Ecotoxicity test methods for endocrine-disrupting chemicals: an introduction. In: MATHIESSEN, P. **Endocrine disruptors: hazard testing and assessment methods**. New York: Wiley, 2013. p. 9-22.
- MOREIRA, D. S. **Desenvolvimento de metodologia analítica por cromatografia/ espectrometria de massas para avaliação da ocorrência de perturbadores endócrinos em mananciais de abastecimento da região metropolitana**

- de Belo Horizonte. 2008. 124 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2008.
- MOZETO, A. A.; ZAGATTO, P. A. Introdução de Agentes químicos no Ambiente. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. (Eds.). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2008. p. 15-38.
- MOZETTO, A. A.; ZAGATTO, P. A. Introdução de agentes químicos no ambiente. In: ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.
- OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. **Guidance document on the diagnosis of endocrine-related histopathology in fish gonads**. Paris: OECD, 2010.
- PETROVIC, M.; ELJARRAT, E.; ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Analysis and environmental levels of endocrine disrupting compounds in freshwater sediments. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, n. 11, p. 637-648, 2001.
- POMPÊO, M. L. M.; MOSCHINI-CARLOS, V. O abastecimento de água e o esgotamento sanitário: propostas para minimizar os problemas no Brasil. In: ROSA, A. H.; FRACETO, L. F.; MOSCHINI-CARLOS, V. (Orgs.). **Meio ambiente e sustentabilidade**. Porto Alegre: Bookman, 2012.
- RAIMUNDO, C. C M. **Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos nas águas superficiais da bacia do rio Atibaia**. 2007. 126 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- REIS FILHO, R. W. **Hormônios estrógenos no rio do Monjolinho, São Carlos, SP: uma avaliação da problemática dos desreguladores endócrinos ambientais**. 2008. 162 f. Tese (Doutorado em Ciências da Engenharia Ambiental) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2008.
- REIS FILHO, R. W.; ARAÚJO, J. C.; VIEIRA, E.M. Hormônios sexuais estrógenos: contaminantes bioativos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 817-822, 2006.
- ROCHA, J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias húmicas aquáticas: interações com espécies metálicas**. São Paulo: Editora UNESP, 2003. 120 p.
- ROCHA, J. C.; SARGENTINI JR, E.; ZARA, L. F.; ROSA, A. H.; SANTOS, A.; BURBA, P. Reduction of mercury (II) by tropical river humic substances (Rio Negro) - Part II. Influence of structural features (molecular size, aromaticity, phenolic groups, organically bound sulfur). **Talanta**, v. 61, p. 699-706, 2003.
- RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; ALDA, M. J. T.; BARCELÓ, D. Monitoring of estrogens, pesticides and bisphenol A in natural waters and drinking water treatment plants by solid-phase extraction-liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1045, n. 1/2, p. 85-92, 2004.
- ROSA, A. H. **Interferentes endócrinos em sistemas aquáticos: interações com substâncias húmicas e perspectivas de tratamento utilizando-se turfas**. São Paulo: FAPESP, 2008. (Processo FAPESP 08/09682-9).
- ROSA, A. H.; GOVEIA, D.; BELLIN, I. C.; TONELLO, P. S.; ANTUNES, M. L. P.; DIAS FILHO, N. L.; RODRIGUES FILHO, U. P. Estudo da labilidade de Cu(II), Cd(II), Mn(II) e Ni(II) em substâncias húmicas aquáticas utilizando-se membranas celulósicas organomodificadas. **Química Nova**, v. 30, p. 59-65, 2007.
- SANTAMARTA, J. Por um futuro sem contaminantes orgânicos persistentes. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v. 2, n. 1, p. 46-56, 2001.
- SEGNER, H.; CAROLL, K.; FESKE, M.; JANSSEN, C. R.; MAACK, G.; PASCOE, D.; SCHAFFERS, C.; VANDENBERG, G. F.; WATTS, M. A. Identification of endocrine-disruption effects in aquatic vertebrates and invertebrates: report from the European IDEA project. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 54, p. 302-314, 2003.
- SODRÉ, F. F.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Occurrence of emerging contaminants in brazilian drinking waters: a sewage – to – tap issue. **Water Air Soil Pollut**, v. 206, p. 57-67, 2010a.
- SODRÉ, F. F.; MONTAGNER, C. C.; LOCATELLI, M. A. F.; JARDIM, W. F. Ocorrência de interferentes endócrinos e produtos farmacêuticos em águas superficiais da região de Campinas (SP, Brasil). **J. Braz. Soc. Ecotoxicol.**, v.2, n. 2, p. 187-196, 2007.

- SODRÉ, F. F.; PESCARA, I. C.; MONTAGNER C. C.; JARDIM, W. F. Assessing selected estrogens and xenoestrogens in Brazilian Surface waters by liquid chromatography – tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 96, p. 92-98, 2010b.
- Special Issue on Endocrine Disruption in Invertebrates, **Ecotoxicology**, v. 16, n. 1, p.1-238, 2007/2007.
- STEINBERG, C. E. W.; PAUL, A.; PFLUGMACHER, S.; MEINELT, T.; KLÖCKING, R.; WIEGAND, C. Pure humic substances have the potential to act as xenobiotic chemicals: a review. **Fresenius Environ. Bull.**, v. 12, p. 391–401, 2003.
- SUN, W. L.; NI, J. R.; XU, N.; SUN, L. Y.; Fluorescence of sediment humic substances and its effect on the sorption of selected endocrine disruptors. **Chemosphere**, v. 66, p. 700-707, 2007.
- SUN, W. L.; NI, J. R.; LIU, T. T. Effect of sediment humic substances on sorption of selected endocrine disruptors. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 6, p. 219-227, 2006.
- THACKER, P. D. Sensing environmental strogens. **Environmental Science and Technology**, n.1, p. 360, 2005.
- TILLITTI, D. E.; SOLOMON, K. R.; MIHAICH, E. M.; COBB, G.; TOUART, L.; KUBIAK, T. J. Role of exposure assessment in characterizing risks of endocrine-disrupting substaces to wildlife. In: KENDALL, R.; DICKERSON, R.; GIESY, J.; SUK, W. **Principles and processes for evaluating endocrine disruption in wildlife**. Brussels: Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 1998. p. 39-67.
- US-EPA. UNITED STATES - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Test method 100.4: *Hyalella azteca*** 42-d test of measuring the effects of sediment – associated contaminants on survival, growth, and reproduction. In: US-EPA. **Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater**. 2. ed. Washington: US-EPA, 2000. p. 72-78.
- US-EPA. UNITED STATES - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Research plan for endocrine disruption**. Washington: US-EPA, 1998.
- VAN DER VEN, L. T. M.; WESTER, P. W.; VOS, J. G. Histopathology as a tool for the evaluation of endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 22, n. 4, p. 908–913, 2003.
- WANG, H. Y.; OLMSTEAD, A. W.; LI, H.; LEBLANC, G. A. The screening of chemicals for juvenoid-related endocrine activity using the water flea *Daphnia magna*. **Aquatic toxicology**, v. 74, p. 193-204, 2005.
- WELTJE, L.; OEJMANN, U. S. The seven year itch – progress in research on endocrine disruption in aquatic invertebrates since 1999. **Ecotoxicology**, v.16, n. 1, p. 1-3, 2007.
- YING, G. G.; KOOKANA, R. S. Sorption and degradation of estrogen-like-endocrine disrupting chemicals in soil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 24, n. 10, p. 2640-2645, 2005.
- YING, G. G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y. J. Ocorrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environmental International**, v. 28, p. 545-551, 2002.
- ZOCOLO, G. J.; SOUZA, A. C.; LOPES, M. N. T.; MARCHI, M. M. R. Determination of estrogens (estriol, β -estradiol, estrone e 17- β ethynylestradiol) in river water from an area rural in Midwest Brasil. **Toxicology Letters**, v. 196, p. 37-351, 2010.