

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO – USP
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO**

REGINA CÉLIA NUCCI PONTELLI

Desreguladores endócrinos e síndrome do olho seco

RIBEIRÃO PRETO

2020

REGINA CÉLIA NUCCI PONTELLI

Desreguladores endócrinos e síndrome do olho seco

Versão Corrigida

(Versão original encontra-se na unidade que aloja o Programa DePós-Graduação)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutor em Ciências.

Área de Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos nos Sistemas Visual e Áudio-Vestibular.

Orientador: Prof.Dr. Eduardo Melani Rocha

RIBEIRÃO PRETO

2020

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Pontelli, Regina Célia Nucci

Desreguladores endócrinos e síndrome do olho seco/
Regina Célia Nucci Pontelli; Orientador, Eduardo Melani
Rocha. Ribeirão Preto. - 2019
104p. : 1il. ; 30 cm

Tese (Doutorado) - Programa de Oftalmologia,
Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço. Área de
Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos dos Sistemas
Visual e Áudio-Vestibular. Faculdade de Medicina de Ribeirão
Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

1. Síndromes do olho seco. 2. Disruptores endócrinos.
3. Poluentes ambientais. 4. Doenças oculares.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Aluno: Regina Célia Nucci Pontelli

Título: Desreguladores endócrinos e síndrome do olho seco

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Mecanismos Fisiopatológicos nos Sistemas Visual e Áudio-Vestibular.

Aprovado em: ___/___/_____

Banca Examinadora

Prof.Dr. EDUARDO MELANI ROCHA - PRESIDENTE

Instituição: FMRP - USP

Assinatura: _____

Prof.Dr. PAULO HILARIO NASCIMENTO SALDIVA

Instituição: FMRP - USP

Assinatura: _____

Profa.Dra. SILVANA ARTIOLI SCHELLINI

Instituição: FM - UNESP - BOTUCATU

Assinatura: _____

Prof.Dr. EDWIN TAMASHIRO

Instituição: FMRP - USP

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico essa tese aos meus pais e
minha família Vado, Luísa e Laura
com todo meu amor!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo Melani Rocha, pela oportunidade de fazer parte de sua equipe, por me atender nas inúmeras vezes que precisei de apoio, pela paciência com minha ansiedade e pela amizade construída durante esse tempo.

À minha mãe, por todos os esforços que realizou para que eu frequentasse uma universidade, sem esse apoio eu jamais teria conseguido uma graduação.

Ao meu marido, minhas filhas e meus irmãos pelo apoio durante todos os anos dedicados ao doutorado. Foram meu suporte emocional, meu porto seguro, minha inspiração para não desistir.

Ao Dr. Altacílio Nunes que abriu a primeira porta para meu ingresso na pós-graduação, oportunidade que serei sempre grata.

Aos amigos da casa 19, Adriana, Amanda, Anna Flora, Ariane, Carol, Denny, Felipe, Lara, Leidiane, Lilian e Marina, não somente pela ajuda técnica, mas principalmente pelo carinho e paciência que foram fundamentais para que me sentisse segura e apoiada nos momentos de dificuldades.

Aos amigos Lara, Marília e Bruno Rocha do departamento de Toxicologia da Faculdade de Farmácia USP-RP, pelas análises e pelo conhecimento compartilhado.

Aos amigos de toda uma vida, pelo apoio, pelos elogios e principalmente pelos encontros regados a muitas risadas.

Aos voluntários que colaboraram para que essa pesquisa pudesse ser realizada, minha gratidão.

Apoio Financeiro

O presente estudo foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- Brasil (CAPES), código de financiamento 0001.

EPÍGRAFE

“Tanto a devastação causada pelas mudanças climáticas quanto as crescentes epidemias relacionadas ao sistema endócrino estão intimamente ligadas ao crescente uso de combustíveis fósseis e seus subprodutos. Ao perfurar profundamente as entranhas da terra para o carvão, o petróleo e o gás natural, alteramos inadvertidamente e catastróficamente a química da biosfera e o útero humano. Algo deve ser feito imediatamente”.

Theo Colborn (1927-2014)¹

¹ Trecho de carta aberta dirigida ao presidente dos Estados Unidos da América, Barack Obama, em 2012, lida pela autora em conferência realizada em Atlanta em 2012. Disponível em :<https://www.youtube.com/watch?v=2r2Rx8VRq48>.

RESUMO

PONTELLI, R.C.N. **Desreguladores endócrinos e síndrome do olho seco**. 2019. 104p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2019 .

Introdução - A síndrome do olho seco é uma doença multifatorial causada por alterações no filme lacrimal. Os hormônios sexuais influenciam a produção de lágrimas e seu desequilíbrio está associado ao olho seco. Os desreguladores ou disruptores endócrinos pertencem a um grupo de compostos onipresentes na natureza que se ligam a receptores hormonais alterando a produção de diversos hormônios, inclusive os sexuais. **Objetivo** – Identificar uma possível relação entre a síndrome do olho seco e a exposição a desreguladores endócrinos. **Método** – Níveis de 21 desreguladores foram medidos na urina de pacientes com olho seco (n = 33) e indivíduos controle (n = 21), por meio de cromatografia líquida e espectrometria de massa. Os voluntários foram submetidos a exame oftalmológico incluindo: teste de Schirmer; teste de coloração com fluoresceína e lissamina verde e teste de ruptura do filme lacrimal. Os voluntários responderam a um questionário para diagnóstico de olho seco e um outro sobre características sociodemográficas, medicamentos utilizados, estilo de vida e doenças associadas. **Resultados** - O grupo olho seco e o grupo controle se mostraram semelhantes em relação ao estilo de vida, medicamentos utilizados e doenças associadas, com exceção do grupo olho seco em relação a doenças reumáticas ($p < 0,001$). Os níveis de ácido metilprotocatecúico e triclocarban na urina apresentaram diferenças significativas entre os grupos ($p = 0,0189$ e $0,0081$, respectivamente) com o primeiro em maior concentração no grupo olho seco e o segundo no grupo controle. Associação entre concentrações urinárias e dados clínicos foi avaliada. Associações positivas foram encontradas entre metilparabeno, etilparabeno e ácido metilprotocatecúico com coloração por fluoresceína; triclocarban com tempo de ruptura do filme lacrimal e ácido metilprotocatecúico com escore do questionário para olho seco. Associações negativas foram encontradas entre etilparabeno e ácido metilprotocatecúico com teste de Schirmer; ácido metilprotocatecúico com tempo de ruptura do filme lacrimal; triclocarban com questionário de olho seco e coloração por fluoresceína e lisamina. A análise multivariada foi aplicada para avaliar o conjunto de desreguladores simultaneamente. A função discriminante quadrática classificou 94,4% dos indivíduos em seus respectivos grupos. **Conclusão** - Metilparabeno, etilparabeno e ácido metilprotocatecúico foram associados a maior comprometimento dos sinais de olho seco. Triclocarban demonstrou um efeito protetor acidental no grupo controle. Esses achados sugerem que alguns desreguladores podem estar associados à síndrome do olho seco. Essas observações indicam que a exposição a esses compostos pode ser incluída na investigação de causas e fatores de risco para olho seco. Estudos mais aprofundados e multicêntricos são necessários para confirmar os achados da nossa pesquisa.

Palavras-chave: síndromes do olho seco; disruptores endócrinos; poluentes ambientais; doenças oculares.

ABSTRACT

PONTELLI, R.C.N. **Endocrine disruptors and dry eye diseases.** 2019. 104p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto. 2019.

Introduction - Dry eye syndrome is a multifactorial disease caused by changes in the tear film. Sex hormones influence the production of tears, and their imbalance is associated with dry eye in different pathologies. Endocrine disruptors belong to a group of ubiquitous compounds in nature that bind to hormone receptors by altering the production of various hormones, including sexual. **Objective**- to identify a possible relation between dry eye syndrome and exposure to endocrine disruptors. **Methods** - Levels of 21 endocrine disruptors were measured in the urine of patients with dry eye (n = 33) and control subjects (n = 21), using liquid chromatography coupled with mass spectrometry. The volunteers underwent eye examination including Schirmer's test; fluorescein staining test; green lysamine staining test and tear film rupture test. The volunteers completed a dry eye diagnosis questionnaire and a structured questionnaire on sociodemographic characteristics, medications used, lifestyle, and associated diseases. **Results** - The dry eye group and the control group were similar in relation to lifestyle, medications used and associated diseases, except for the dry eye group and rheumatic disease (p < 0.001). The levels of methyl protocatechuic acid and triclocarban in urine showed significant differences between groups (p = 0.0189 and 0.0081, respectively) with the first in greater concentration in the dry eye group and the second in the control group. Association between urinary concentrations and clinical data was evaluated. Significant positive associations were found between methyl paraben, ethyl paraben and methyl protocatechuic acid with fluorescein-stained; triclocarban with tear film rupture time and methyl protocatechuic acid with dry eye questionnaire score. Significant negative associations were found between ethyl paraben and methyl protocatechuic acid with Schirmer's test; methyl protocatechuic acid with tear film rupture time; triclocarban with dry eye questionnaire and fluorescein and lysamine staining. Multivariate analysis was applied to evaluate the set of deregulators simultaneously. Quadratic discriminant function classified 94.4% of the individuals in their respective groups. **Conclusion** - Methyl paraben, ethyl paraben and methyl protocatechuic acid were associated with greater impairment of dry eye signals, while triclocarban demonstrated an accidental protective effect in the control group. These findings suggest that some deregulators may be associated with dry eye syndrome. These observations indicate that exposure to these compounds may be included in the investigation of causes and risk factors for dry eye in the clinical context and epidemiological studies. Further multicenter studies are needed to confirm our research findings

Keywords: dry eye syndrome; endocrine disruptors; environmental contaminants; ocular diseases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1-	Origem, classes, representantes e principais usos dos desreguladores endócrinos	31
Quadro 2-	Receptores hormonais associados a desreguladores endócrinos	36
Tabela 1 -	Dados demográficos, comorbidades, medicações e dados clínicos nos grupos olho seco e controle	57
Tabela 2 -	Hábitos do cotidiano dos grupos olho seco e controle	58
Tabela 3 -	Concentrações urinárias e taxas de detecção dos desreguladores endócrinos no grupo olho seco (n = 33) e grupo controle (n= 21)	59
Tabela 4 -	Concentrações urinárias de desreguladores endócrinos nos voluntários da pesquisa comparados a dados clínicos	60
Tabela 5 -	Estudos referentes a concentração de desreguladores endócrinos na urina de adultos em diversos países	63
Figura 1 -	Discriminação dos indivíduos com olhos seco e controle	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

4OHBP	4 hidroxibenzona
8OHDG	8-hydroxy2'-deoxyguanosine
AALLME	Air-Assisted Liquid-Liquid Microextraction
AhR	Aryl hidrocarban Receptor
AR	Androgen Receptor
AUC	Area Under the Curve
BP1	Benzofenona1
BP2	Benzofenona 2
BP3	Benzofenona 3
BP8	Benzofenoan 8
BPA	Bisfenol A
BPAF	Bisfenol AF
BPAP	Bisfenol AP
BPF	Bisfenol F
BPP	Bisfenol P
BPS	Bisfenol S
BPZ	Bisfenol Z
BuP	Butilparabeno
CF	Coloração por fluoresceína
CL	Coloração por lisamina
DDE	Diclorodifenildicloroetano
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DE	Desregulador/Disruptor Endócrino
DEHP	Di-2etilhexil-ftalato
DES	Dietilestilbestrol
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ER	Estrogen Receptor
ER α	Estrogen Receptor alpha
ER β	Estrogen Receptor beta
ERN	Espécies Reativas do Nitrogênio
ERR	Estrogen-Related Receptor
ER α	Estrogen Receptor alpha
ER β	Estrogen Receptor beta
EtP	Etilparabeno
EUA	Estados Unidos da América
FDR	False Discovery Rate
GC	Grupo Controle
GOS	Grupo Olho Seco
GPR30	G protein-coupled receptor 30
HCFMRP	Hospital das Clinicas Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
HPA	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
LC-MS/MS	Liquid Chromatography Tandem-Mass Spectrometry

LOD	Limit of Detection
LOG	Logaritmo
MG	Média Geométrica
MeP	Metilparabeno
ml	Mililitro
ng	Nanograma
OHEtP	Ácido etil-protocatecuico
OHMeP	Ácido metil-protocatecuico
ON	Oxido Nítrico
OR	Odds Ratio
OSDI	Ocular Surface Diseases Index
PBDE	Polybrominated diphenyl ethers.
PCBs	Bifenilas policloradas
PPAR γ	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma
PrP	Propilparabeno
PXR	Pregnane Receptor X
RNA m	Ácido Ribonucleico mensageiro
ROC	Receiver Operator Characteristic
RR	Retinoid Receptor
RT-PCR	Real Time Polymerase Chain Reaction
T3	Triiodotironina
T4	Tetraiodotironina
TBT	Tributirina
TCC	Triclocarban
TCDD	2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina
TCLE	Termo de Esclarecimento Livre e Esclarecido
TCS	Triclosan
TFBUT	Tear Film Break-Up Time
TR	Thyroid Receptor
TS	Teste de Schirmer
UE	União Européia

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	16
2.REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1.SÍNDROME DO OLHO SECO	20
2.1.1. Definição e conceitos gerais	20
2.1.2. Prevalência e incidência	22
2.1.2.Fatores de risco	23
2.2.DESREGULADORES ENDÓCRINOS	26
2.2.1. Definição e histórico	26
2.2.2. Características gerais	29
2.2.3. Origem e classificação	30
2.2.4. Fontes de exposição	32
2.2.5. Mecanismos de ação	32
2.2.6.Efeitos nos organismos vivos	37
2.2.6.1 Alterações na divisão celular	37
2.2.6.2 Alterações na reprodução	39
2.2.6.3 Obesidade e doenças cardiovasculares	39
2.2.6.4 Diabetes	41
2.2.6.5 Alterações neurológicas	42
2.2.6.6 Alterações na função da tireoide	42
3.OBJETIVOS	46
4.MATERIAL E MÉTODOS	48
4.1. Pesquisa	48
4.2. Participantes	48
4.3. Desenvolvimento	49
4.3.1. Questionários	49
4.3.2. Investigação clínica ocular	49
4.3.3. Critérios de inclusão	50
4.3.4. Coleta da urina	51
4.3.5. Análise química da urina	51
4.3.5.1 Método de análise	51
4.3.5.2 Preparo dos padrões e da urina sintética	52
4.3.5.3 Preparo das amostras	52
4.3.5.4 Análise instrumental	53
4.4 Análises estatísticas	53
5.RESULTADOS	57
5.1. Questionários	57
5.2. Concentração Urinária dos Desreguladores Endócrinos	59
5.3. Concentrações Urinárias de Desreguladores Endócrinos Relacionados a Dados Clínicos	61
5.4. Análise de Variância Multivariada entre os Grupos	62
5.5. Concentrações de Desreguladores Endócrinos do Grupo Controle Comparados a Outros Países	63
6.DISSCUSSÃO	67
7.CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
APÊNDICE	100
ANEXOS	102

1. Introdução

1.INTRODUÇÃO

O aumento populacional observado nas últimas décadas aliado ao avanço tecnológico acelerou o consumo, e como consequência inevitável desse processo, ocorreu um aumento na concentração de poluentes ambientais na natureza. O avanço da industrialização, ocasionou um aumento significativo de bens de consumo, e associado a isso, um descarte crescente na natureza de subprodutos oriundos do processo de produção. Todo processo produtivo incide na geração de resíduos que são descartados, em grande parte, sem um tratamento adequado, acarretando uma sobrecarga de poluentes no meio ambiente. Importante destacar que nem todos os poluentes resultam de processo produtivo, existem alguns, como hormônios excretados por animais e seres humanos, que contaminam o solo e os corpos hídricos sendo considerados contaminantes ambientais de origem natural(CORREIA; FONTOURA, 2015;LANDRIGAN; FULLER, 2015).

Pesquisas comprovam a influência da exposição a poluentes na saúde dos animais, incluindo a espécie humana, principalmente em países nos quais as leis regulatórias são amenas, ou deixam de ser cumpridas por falta de fiscalização. Algumas doenças associadas à exposição são clássicas na literatura, como problemas respiratórios associados à poluição do ar. O fato de encontrarmos poluentes na água, no ar, e nos alimentos, torna praticamente impossível a não exposição, e conseqüentemente, o surgimento de doenças resultantes desse processo(BILA; DEZOTTI, 2007;BRUGHA; GRIGG, 2014).

Na natureza, tanto na água quanto no ar, encontramos um grupo de poluentes ou contaminantes ambientais cujos representantes pertencem a diferentes classes químicas, mas que apresentam em comum a capacidade de desregular nosso sistema endócrino, alterando a produção de diversos hormônios e afetando a homeostase dos organismos vivos. Esses compostos são denominados disruptores ou desreguladores endócrinos (DE). A exposição a esses compostos afeta principalmente órgãos relacionados a reprodução, interferindo na preservação das espécies, entretanto, outros órgãos também são afetados. O fato de ocorrer uma desregulação na produção de hormônios faz com que, de maneira geral, qualquer órgão cujos tecidos possuam receptores hormonais possa ser afetado (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009;FRYE et al., 2012).

O objetivo do nosso trabalho foi avaliar a relação entre a concentração de DE nos portadores de síndrome do olho seco (SOS) comparados a um grupo controle. Nossa hipótese é que a exposição aos DE possa estar envolvida em doenças oculares, com foco na SOS, uma vez que os receptores de hormônios androgênicos e estrogênicos têm sido descritos nas glândulas meibomianas, no epitélio conjuntival, na superfície da córnea e nas glândulas lacrimais (ROCHA et al., 2000; WICKHAM et al., 2000; GUPTA et al., 2005). A literatura evidencia estudos em modelos animais e humanos relatando o impacto do meio ambiente na fisiopatologia do olho seco (ALVES et al., 2014a). A desregulação hormonal provocada por DE nos tecidos oculares, pode estar relacionada ao surgimento ou agravamento do olho seco.

2. Referencial Teórico

2.REFERENCIAL TEÓRICO

2.1.SÍNDROME DO OLHO SECO

2.1.1. Definição e conceitos gerais

Historicamente a SOS foi definida como uma doença na qual a fase aquosa do filme lacrimal estava diminuída. Posteriormente as definições foram se embasando em estudos mais aprofundados que abordavam além da alteração do filme lacrimal, um aumento da evaporação da lágrima. Em 2007 um relatório do Internacional Dry Eye Workshop definiu a doença:

Olho seco é uma doença multifatorial da lágrima e da superfície ocular que resulta em sintomas de desconforto, alterações visuais e instabilidade lacrimal com potencial de dano à superfície ocular. É acompanhada por aumento da osmolaridade do filme lacrimal e inflamação da superfície ocular (LEMP, 2007).

Em 2017 uma equipe de pesquisadores de 23 países reavalia os dados referentes ao olho seco e publica no relatório TFOS DEWS II (Tear Film & Ocular Surface Society and Dry Eye Workshop) uma definição mais atualizada:

O olho seco é uma doença multifatorial da superfície ocular caracterizada pela perda da homeostase do filme lacrimal e acompanhada por sintomas oculares, na qual a instabilidade e hiperosmolaridade do filme lacrimal, inflamação e danos da superfície ocular e anormalidades neurosensoriais desempenham papéis etiológicos (CRAIG et al., 2017).

A SOS resulta da perda da homeostase do filme lacrimal pela deficiência de algum componente que está relacionado com a funcionalidade da superfície ocular. A unidade funcional da superfície ocular é composta pelo filme lacrimal, os epitélios da córnea e limbal, células epiteliais da conjuntiva e pelas glândulas de meibômio e lacrimais (ROLANDO; ZIERHUT, 2001). O conceito de unidade funcional lacrimal foi apresentado em 1998 para descrever a relação entre a superfície ocular e as glândulas lacrimais, tanto na secreção lacrimal normal quanto durante a inflamação (STERN et al., 1998). O filme lacrimal é composto por três camadas: a camada lipídica mais externa, a camada aquosa intermediária e a camada de mucina mais interna.

A camada lipídica é produzida pelas glândulas meibomianas cuja principal função é prevenir a evaporação das lágrimas e contribuir para a estabilidade do filme lacrimal(ROLANDO; REFOJO; KENYON, 1985). A camada aquosa é produzida principalmente pelas células epiteliais dos ductos lacrimais e é responsável pelo transporte de nutrientes e oxigênio para a córnea(SHARMA; HINDMAN, 2014;MANTELLI et al., 2016).Essa camada responde de maneira rápida a agressões sofridas por condições ambientais e corporais adversas. A resposta ocorre devido à produção de fatores anti-inflamatórios como as interleucinas,que auxiliam na modulação das respostas a efeitos adversos da superfície ocular(THAKUR; WILLCOX; STAPLETON, 1998).A camada de mucina é produzida pelas células caliciformes e epiteliais do tecido conjuntivo e da córnea. Essas células sintetizam a glicoproteína mucina 1 que é parte integrante do glicocálix.As células da conjuntiva também produzem outros tipos de mucina, como a mucina 4. Oglicocálix desempenha função importante para que as lágrimas possam se aderir a superfície anterior do olho. As mucinas permitem que a viscosidade da lágrima possa ser alterada de acordo com a intensidade de piscadas do indivíduo(INATOMI et al., 1996;GIPSON; INATOMI, 1998).

Deficiências, em qualquer uma das três camadas, causadas por fatores diversos como doenças sistêmicas, medicações tanto tópicas quanto sistêmicas e fatores ambientais podem levar à doença(ROLANDO; ZIERHUT, 2001).Os fatores ambientais podem causar danos aos tecidos oculares, levando adobramentos que alteram a instabilidade do filme lacrimal, quer por diminuir a secreção lacrimal, quer por aumentar a evaporação da lágrima.A deficiência de lágrima em pacientes que apresentam olho seco gera um estado inflamatório crônico na superfície ocular e na glândula lacrimal. Essa inflamação desencadeia a secreção de citocinas inflamatórias tanto na glândula lacrimal quanto na superfície ocular. À medida que a inflamação aumenta, há uma perda de produção lacrimal devido aos linfócitos infiltrados, um aumento da secreção de citocinas inflamatórias, uma eventual destruição da glândula lacrimal, a disfunção da glândula lacrimal remanescente e a perda do reflexo de respostalacrimal aos impulsos nervosos sensoriais(STERN et al., 1998;STERN et al., 2004).Diante dessa condição,a SOS segue um ciclo vicioso no qual os fatores de risco como estímulos externos afetam indivíduos susceptíveis agredindo os tecidos oculares, o que gera uma resposta inflamatória que leva a uma instabilidade do filme lacrimal aumentando a evaporação, causando

hiperosmolaridade da lágrima que causa um dano direto na superfície ocular, o que induz a inflamação fechando dessa forma o ciclo(ROLANDO; ZIERHUT, 2001).

2.1.2. Prevalência e incidência

Em 2017, uma comissão de pesquisadores publicou uma revisão com metanálise dos estudos sobre prevalência e incidência da SOS dos últimos 10 anos, estratificada por idade e sexo. A prevalência do olho seco, segundo essa revisão, aumenta com a idade e é mais frequente em mulheres variando de 5 a 50% em estudos envolvendo sintomas com ou sem sinais. Ainda com dados do relatório, os povos asiáticos utilizando os mesmos critérios diagnósticos e faixa etária semelhante, apresentaram maior prevalência de instabilidade lacrimal do que os caucasianos(STAPLETON et al., 2017).

Vários fatores contribuem para a determinação da prevalência em estudos populacionais e talvez seja essa razão pela qual observamos uma faixa ampla de variação entre os estudos. Alguns autores abordam apenas sintomas, outros sinais ou ainda sinais e sintomas simultaneamente. O relatório citado acima afirma que as taxas de prevalência baseadas no relato de sintomas são mais consistentes do que aquelas que incluem os sinais. Estudos em que o diagnóstico foi baseado principalmente em sinais geralmente relataram taxas mais altas e mais variáveis, atingindo até 75% em certas populações.

Alguns estudos determinaram taxas de prevalência diferentes em relação ao sexo, como por exemplo um estudo realizado no Japão obtendo taxas de 21,6% para mulheres contra 12,5% para homens (UCHINO et al., 2011), outros diferem taxas por regiões como caso de um estudo na Coreia do Sul onde a prevalência na área metropolitana foi de 1,67% comparada a de 1,58% na área rural(UM et al., 2014). Um estudo realizado nos Estados Unidos da América (EUA) somente com mulheres com idade superior a 50 anos apresentou prevalência de 7,8%(SCHAUMBERG et al., 2003).No Brasil um estudo recente envolvendo mais de três mil participantes de cinco regiões geopolíticas diferentes foi realizado a fim de determinar a prevalência de olho seco na população, sendo o primeiro estudo com uma grande amostra populacional na América Latina. A prevalência geral de olho seco foi de 12,8%(CASTRO et al., 2018).Na Índia um estudo observacional foi realizado entre 2010 e 2018 com 1.458.830 pacientes de um hospital oftalmológico.

Desse total 21.290 (1,46%) pacientes foram diagnosticados pela primeira vez com olho seco durante o estudo. A incidência foi de 2.688 por milhão de habitantes em crianças e 16.482 por milhão de habitantes em adultos. Os fatores de risco evidenciados nesse estudo foram: Idade (OR 3,7-13,5), residência urbana (OR 1,6), ocupação profissional (OR 1,5); aposentadoria / desemprego (OR 1,24) e status socioeconômico (OR 1,6-3,2)(DONTINENI et al., 2019).Recentemente um estudo retrospectivo foi publicado nosEUA usando os dados do Sistema Militar de Saúde entre 1º de janeiro de 2003 e 31 de março de 2015 com idade variando de 2 a 80 anos. A incidência anual de olho seco foi calculada para o período entre 2008 e 2012. As taxas anuais de incidência na população geral variaram entre 0,55% e 0,87%, com uma tendência crescente ao longo do tempo. Quando estratificadas pela idade as taxas de incidência variaram de 0,15% a 0,26% em indivíduos de 18 a 39 anos, de 0,42% a 0,65% entre 40 e 49 anos e de 1,03% a 1,62% com 50 anos ou mais (DANA et al., 2019).

2.1.2 Fatores de risco

Apesar do amplo conhecimento sobre a SOS, ainda existem muitos questionamentos a respeito das causas que levam um indivíduo a apresentar uma diminuição ou ausência total na produção de lágrima. Fatores de risco como idade, sexo, doença do tecido conectivo, síndrome de Sjögren, disfunções hormonais, uso de computador e lentes de contato por longos períodos, uso de ar condicionado por longos períodos, terapia de reposição estrogênica, uso de medicação (anti-histamínicos, antidepressivos, ansiolíticos, isotretinoína), poluição atmosférica e baixa umidade do ar podem estar associados ao surgimento do olho seco(MOSS; KLEIN; KLEIN, 2000;UCHINO et al., 2011; PAULSEN et al., 2014).

Um fator de risco que deve ser considerado por estar ligado com a exposição a DE é o estresse oxidativo.A hipótese de que o estresse oxidativo nos tecidos oculares pode estar envolvido na patogenia do olho seco já foi abordada por diversos autores (ROCHA et al., 2008;WAKAMATSU; DOGRU; TSUBOTA, 2008;UCHINO et al., 2012a;UCHINO et al., 2012b).Evidências de que o estresse oxidativo constante pode levar a doenças oculares se deve ao fato do terem sido encontradas altas taxas de marcadores de danos oxidativos nesses tecidos(NAKAMURA et al., 2007;ZHENG et al., 2015;KRUK et al., 2016;). O estado

inflamatório constante de pacientes acometidos por olho seco geram espécies reativas de oxigênio (ERO) pela ação dos leucócitos polimorfonucleares. As enzimas antioxidantes do tecido não são capazes de eliminar as ERO na sua totalidade e uma das consequências é a peroxidação lipídica que foi detectada em altos níveis em pacientes com olho seco (AUGUSTIN et al., 1995). Um estudo induziu células da córnea humana à hiperosmolaridade e concluiu que esse estado resultou no aumento de ERO devido à peroxidação lipídica (DENG et al., 2015). As reações inflamatórias como fonte de ERO são reportadas em outros estudos envolvendo doenças oculares (SHOHAM et al., 2008; KOJIMA et al., 2012; WAKAMATSU et al., 2013; ANDRADE et al., 2014).

Radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de nitrogênio e não de oxigênio são denominados de ERN (espécies reativas de nitrogênio). Dentre as principais ERN incluem-se o óxido nítrico (ON). O ON é um radical livre potencialmente tóxico produzido a partir da L-arginina, por uma reação mediada pela enzima óxido nítrico-sintase. Células epiteliais da conjuntiva de portadores de olho seco revelaram uma expressão aumentada da enzima óxido nítrico-sintase e também da presença de malondialdeído, subproduto tóxico da peroxidação lipídica (ČEJKOVÁ et al., 2007).

Outro fator de risco importante são as disfunções hormonais que também podem estar relacionadas à exposição a DE. Nas glândulas meibomianas, no epitélio conjuntival, na superfície da córnea e nas glândulas lacrimais são encontrados receptores para hormônios sexuais como estrogênio, androgênio e progesterona (WICKHAM et al., 2000; GUPTA et al., 2005). Desta forma, os hormônios representam papel significativo na homeostase do filme lacrimal pelo fato da produção de seus componentes ser regulada por mecanismos neuronais e hormonais (ROCHA et al., 2000; ROLANDO; ZIERHUT, 2001). As alterações hormonais podem desencadear processos inflamatórios alterando a funcionalidade do filme lacrimal e dessa maneira propiciar o surgimento do olho seco (SUZUKI et al., 2002; TRUONG et al., 2014). Estudos demonstraram que a presença desses receptores hormonais, tanto estrogênicos quanto androgênicos, têm uma influência significativa sobre a função exercida pela glândula de meibômio devido à sua atuação na produção de lipídeos e regeneração tecidual (MARIN-CASTAÑO et al., 2003). Os androgênios aumentam a produção de lipídeos nas glândulas enquanto os estrogênios e a progesterona reprimem essa produção, funcionando então de

maneira antagônica(SUZUKI et al., 2002;VERSURA; GIANNACCARE; CAMPOS, 2015).

Alguns autores afirmam que uma das maiores causas de olho seco ocorre por uma disfunção das glândulas de meibômio (ROCHA et al., 2000;ROLANDO; ZIERHUT, 2001;SUZUKI et al., 2008;NICHOLS, 2011).Os androgênios agem regulando positivamente os níveis de RNAm (ácido ribonucleico mensageiro) das enzimas lipogênicas, que são a chave nas vias de colesterol e ácidos graxos da glândula meibomiana(SCHIRRA et al., 2006).Em situações onde ocorre a deficiência androgênica ocorre também uma disfunção da glândula meibomiana, devido a um perfil lipídico alterado das secreções da glândula,acarretando um tempo de ruptura do filme lacrimal diminuído e olho seco funcional(SULLIVAN et al., 2002).O estrogênio também afeta a glândula de meibômioquando sua produção é alterada, inibindo a secreção lipídica o que propicia um estado inflamatório(VERSURA; GIANNACCARE; CAMPOS, 2015;GOLEBIOWSKI et al., 2016).A diminuição na produção de estrogênio não afeta somente as glândulas de meibômio como também as lacrimais, acarretando lesões que podem levar a necrose e apoptose celular, e nesse caso, levando a um olho seco por deficiência aquosa(AZZAROLO; EIHAUSEN; SCHECHTER, 2003)(MOSTAFA; SEAMON; AZZAROLO, 2012).O fato de a menopausa ser um fator de risco para olho seco poderia ser justificado pela diminuição dos níveis de estrogênio.

Estudos em modelo animal demonstram o papel relevante que os hormônios têm sobre a homeostase do filme lacrimal.No modelo animal a glândula meibomiana de camundongos demonstrou a presença de RNAm para todas as principais enzimas lipogênicas presentes na síntese de colesterol e ácidos graxos envolvidos na síntese de lipídeos(SCHIRRA et al., 2006). A influência do androgênio na expressão gênica na glândula lacrimal foi avaliada por meio de teste RT-PCR (do inglês: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction Quantitative Real Time) no tecido glândular de camundongos tratados previamente com testosterona *versus* controle. Os resultados demonstram que a testosterona regula a expressão de mais de 2000 genes na glândula lacrimal(RICHARDS et al., 2005).

Tecidos da glândula lacrimal, células epiteliais acinares da glândula lacrimal, glândula meibomiana, pálpebra, conjuntiva palpebral e bulbar, córnea, íris e retina de ratos Sprague-Dawley foram coletados para análise de receptores de estrogênio e androgênio por RT-PCR, sendo detectados receptores para os hormônios

esteroides sexuais em todos os tecidos (WICKHAM et al., 2000). Em fêmeas Sprague–Dawley saudáveis que foram ovariectomizadas, houve uma diminuição significativa na formação de lágrimas de 6.6 mm/min para 4.2 mm/min e aumento do escore do teste de coloração por fluoresceína em comparação com os controles após 2 meses. Após a análise, as fêmeas passaram por um período de reposição de estrogênio que aumentou significativamente a formação de lágrimas demonstrando a influência do estrogênio no tecido ocular (KUMAR et al., 2017). Os resultados dessas pesquisas podem corroborar com a teoria de que os olhos representam um órgão alvo para hormônios sexuais, entretanto como ainda existem muitos questionamentos relativos à etiologia do olho seco, podemos supor que outros hormônios também possam estar envolvidos.

2.2. DESREGULADORES ENDÓCRINOS

2.2.1. Definição e histórico

Contaminantes ambientais capazes de desregular o sistema endócrino dos organismos vivos são comumente denominados DE, porém existem outras terminologias como perturbadores endócrinos, interferentes endócrinos e interferentes hormonais (LINTELMANN et al., 2003). A descoberta de que compostos de diferentes classes químicas teriam em comum a capacidade de alterar a produção/excreção de hormônios nos seres vivos é relativamente recente, apesar dos compostos já existirem há longo tempo. Em 1938 foi criado o primeiro estrógeno sintético denominado dietilestilbestrol (DES) utilizado por milhares de mulheres grávidas entre 1940 e 1970 para prevenir o aborto e diminuir o desconforto dos enjoos. Anos depois, quando filhos dessas mães entraram na puberdade, foram observados distúrbios nos aparelhos reprodutores desses jovens e constatou-se que eram efeitos ocasionados pelo estrogênio sintético (MILLS; CHICHESTER, 2005; MONNERET, 2017). Na mesma época, ecologistas de várias partes do mundo notaram distúrbios relacionados à reprodução em animais selvagens, que estavam causando sérios impactos na preservação de diferentes espécies. Esses efeitos foram ligados à exposição a produtos químicos ambientais que somente mais tarde seriam conhecidos como DE (FRY, 1995).

O grande passo dado para o entendimento desses distúrbios, que estavam sendo observados em diferentes espécies animais, ocorreu devido à grande determinação e espírito questionador da bióloga americana Rachel Carson, que em 1962, publicou o livro “Silent Spring” traduzido para o português (Rachel Carson. Primavera Silenciosa. Ed. Guaia, Pag. 327, 2010) fruto de anos de estudos sobre contaminação ambiental por produtos químicos. Carson analisou os impactos ambientais da pulverização indiscriminada de dicloro difenil tricloroetano (DDT) nos EUA e identificou que o DDT e outros pesticidas tinham associação com câncer em animais silvestres e que seu uso era uma ameaça à vida selvagem(BONZI, 2013). Em 1972, dez anos após, em resposta à evidência de efeitos ambientais e toxicológicos expostos no livro de Rachel Carson, a Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EPA-Environmental Protection Agency) anunciou que o uso geral do DDT seria banido nos EUA. No Brasil, só em 2009 sua fabricação, importação, exportação, manutenção em estoque, comercialização e uso foi proibida pela Lei nº. 11.936 de 14 de maio de 2009(D’AMATO; TORRES; MALM, 2002).

Nos anos 1990, crocodilos no Lago Apopka (EUA), apresentaram desequilíbrios populacionais devido a distúrbios endócrinos que afetaram a reprodução. Expostos a vários pesticidas persistentes no meio ambiente, incluindo DDT, apresentavam níveis elevados de estrogênio, órgãos sexuais atrofiados e anormalidades genéticas(GUILLETTE et al., 1994).A pesquisadora Theodora Colborn em 1988 revelou que aves, peixes, mamíferos e répteis transferiam substâncias químicas persistentes para seus filhos. Após anos de pesquisa lançou em 1996 o livro “Our Stolen Future ” , traduzido atualmente para diversos países (no Brasil sob o título Nosso Futuro Roubado da editora L&PM em 1997)(KWIATKOWSKI et al., 2016).Diante dos fatos e da divulgação de vários estudos envolvendo compostos capazes de alterar a função normal de organismos vivos por meio de alteração hormonal, muitas comissões em diferentes países começaram a se organizar para aprimorar conhecimento sobre o tema. Uma conferência em 1991 em Racine, Wisconsin, EUA reuniu um grupo multidisciplinar de especialistas para avaliar o assunto. Não ocasião, um relatório foi produzido descrevendo os problemas causados por DE, tanto na vida animal, como em seres humanos, com ênfase no fato de que a exposição no período de desenvolvimento poderia levar a doenças na vida adulta. Era o início dos estudos para o entendimento dos mecanismos de ação

desses compostos(BERN, 1992).Em 1997 foi publicado pela EPA a definição de DE como:

“Agente exógeno que interfere com síntese, secreção, transporte, ligação, ação ou eliminação de hormônio natural no corpo que são responsáveis pela manutenção, reprodução, desenvolvimento e/ou comportamento dos organismos”(DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009).

Em 2002 a Organização Mundial de Saúde emitiu a primeira avaliação global sobre o estado da ciência dos DE baseada nos impactos desses compostos na reprodução, no comportamento neurológico, no câncer, no sistema imunológico e em outros sistemas endócrinos. Naquela ocasião uma definição mais atualizada foi publicada:

“Um desregulador endócrino é uma substância ou mistura exógena que altera a (s) função (ões) do sistema endócrino e, conseqüentemente, provoca efeitos adversos à saúde em um organismo intacto ou em sua descendência ou (sub) populações”.

E a definição de compostos potenciais desreguladores:

“Um potencial disruptor endócrino é uma substância ou mistura exógena que possui propriedades que poderiam levar à ruptura endócrina em um organismo intacto, ou em sua progênie, ou (sub) populações”(DAMSTRA et al., 2002).

A “Endocrine Society”, uma organização internacional dedicada a assuntos relacionados a hormônios, reuniu em 2008 um grupo de especialistas para revisar o estado da ciência sobre os efeitos endocrinológicos dos DE. Na ocasião listaram compostos relacionados a obesidade, diabetes, reprodução, vários tipos de câncer, bem como alterações no sistema neuroendócrino(GORE et al., 2015).Em 2012 os dados da avaliação realizada em 2002 pela Organização Mundial de Saúde foram então atualizados na “*World Health Organization State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals*” com avanços no que se diz respeito amecanismos de ação, efeitos biológicos e impactos na saúde. O relatório dessa avaliação classificou os DE como uma ameaça em escala mundial, responsável pela elevada tendência para o aumento de diversas doenças relacionadas ao sistema endócrino (BIRNBAUM, 2013).Em 2019 o Parlamento Europeu apresentou o conhecimento científico atual sobre os efeitos na saúde dos DE. O relatório apontou evidências científicas sobre o conceito de desregulação endócrina, a extensão da exposição e seus efeitos. A comissão responsável considerou que:

“Os desreguladores endócrinos compreendem uma categoria de produtos químicos que suscita um nível de preocupação equivalente às substâncias classificadas como cancerígenas, mutagênicas e tóxicas para a reprodução” (GIESEKE, 2019).

2.2.2. Características gerais

Os DE estão onipresentes na natureza e nenhum ser vivo está isento do contato com esses compostos. A exposição, mesmo em doses diminutas, na ordem de nanogramas/litro (ng/l) pode causar desregulação endócrina (BILA; DEZOTTI, 2007). Possuem a capacidade de bioacumulação, principalmente no tecido adiposo, devido à lipofinidade da maioria dos representantes (GEYER et al., 2000). Em relação ao mecanismo de ação, apresentam respostas não tradicionais na curva dose-resposta. Devido à complexa dinâmica da ocupação e saturação dos receptores hormonais, baixas doses podem ter impacto negativo maior nos tecidos alvo que as altas doses (VANDENBERG et al., 2012).

Analisar os efeitos dos DE nos organismos vivos é uma tarefa complexa pois além da dose de exposição outros fatores como sexo, idade e associação de dois ou mais DE afetam de maneira distinta os organismos (NOGUERA-OVIEDO; AGA, 2016). A exposição durante a vida intra uterina apresenta seus efeitos deletérios mais acentuados, e crianças, em especial os recém-nascidos, são mais afetados (CASTRO-CORREIA; FONTOURA, 2015). Algumas razões para a exposição causar mais danos nos fetos e nas crianças se deve ao fato de que os mecanismos de reparo do ácido desoxirribonucleico (DNA) e um sistema imunológico mais desenvolvido não estarem totalmente funcionais nessa fase da vida, além disso apresentam uma taxa metabólica mais acelerada, o que resulta em um aumento significativo de toxicidade (NEWBOLD; PADILLA-BANKS; JEFFERSON, 2006). A associação de dois ou mais DE pode apresentar um sinergismo onde a atividade é superior à exposição isolada, isso pode ser explicado pelo fato de um DE ter a capacidade de aumentar o número de receptores celulares enquanto o outro ter a capacidade de ativação dos mesmos (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009; VANDENBERG et al., 2012). Em síntese, os DE:

- I. Agem diretamente nos receptores hormonais ou nas proteínas que controlam hormônios;
- II. A afinidade a um receptor não depende somente de sua potência, mas de um conjunto de fatores;

- III. Produzem curva dose-resposta não linear tanto *in vitro* como *in vivo*;
- IV. Alguns interagem simultaneamente com vários receptores;
- V. A sensibilidade à desregulação endócrina é maior durante o desenvolvimento de tecido;
- VI. A desregulação endócrina representa uma forma especial de toxicidade, e isso deve ser levado em consideração ao interpretar os resultados de estudos;
- VII. Possuem efeitos aditivos em exposições simultâneas.

2.2.3. Origem e classificação

A ocorrência dos DE no meio ambiente pode ser de origem natural como hormônios produzidos pelos seres vivos e fitoestrógenos, e de origem sintética que inclui um vasto número de representantes como produtos utilizados como solventes, lubrificantes, herbicidas, fungicidas, pesticidas, ou utilizados para fabricação de cosméticos, artigos de limpeza, retardadores de chama, selantes dentários e alguns medicamentos como DES(NOHYNEK et al., 2013; KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015;). Os exemplos citados possuem uma estrutura química diversificada com características bastante distintas, entretanto todos apresentam mecanismos de desregulação endócrina. No Quadro 1, alguns exemplos de DE e seus respectivos usos.

Referencial Teórico

Quadro 1- Origem, classes, representantes e principais usos dos desreguladores endócrinos.

Origem	Classes	Representantes	Uso
Natural	Estrógenos naturais	17 β - Estradiol, Estrona, Estriol.	-
	Fitoestrógenos	Genisteína, Metaresinol, Daidzeína.	-
Sintética	Alquil Fenóis	Nonilfenol, Octilfenol.	Plastificantes, antioxidantes e foto-estabilizantes utilizados em detergentes, tintas, herbicidas, agentes umectantes e cosméticos.
	Antimicrobianos	Triclosan, Triclocarban.	Antisséptico, desinfetante, conservante em cosméticos, produtos de limpeza
	Benzofenonas	Benzofenona-3	Filtro solar em cosméticos e medicamentos
	Bifenilas Policloradas	Monoclorobifenila, Diclorobifenila, Decaclorobifenila	Transformadores e condensadores elétricos (passado), plastificante de tintas, subproduto de vários processos industriais.
	Bisfenóis	Bisfenol A, Bisfenol S, Bisfenol F.	Plásticos como policarbonatos e resinas epoxi, resina dentária, revestimento de latas de alimentos.
	Éteres Difenílicos Polibromados	Pentabromodifenil éter, Hexabromodifenil éter, Octabromodifenil éter.	Retardadores de chama em moveis, aparelhos eletrônicos, materiais de construção.
	Ftalatos	Butil benzil ftalato, Dibutil ftalato, Dietil ftalato.	Cosméticos, embalagens de alimentos e bebidas, brinquedos, materiais de construção materiais hospitalares.
	Fungicidas	Vinclozolina, Carbendazine, Penconazol.	Agricultura
	Herbicidas	Atrazina	Agricultura
	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	Naftalina, Antraceno, Fluoranteno, Pireno.	Formados principalmente, pela combustão incompleta da matéria orgânica (queima de carvão, escapamentos de veículos, óleos lubrificantes usados em motores.
	Inseticidas	DDT, DDE, Deltametrin.	Controle de pragas
	Metais Pesados	Cádmio, Mercúrio, Zinco, Chumbo.	Baterias, tintas, vernizes e lâmpadas.
	Parabenos	Metilparabeno, Etilparabeno, Propilparabeno, Butilparabeno.	Conservantes em alimentos, cosméticos, produtos de higiene pessoal.
	Produtos Farmacêuticos	DES, 17 α -etinilestradiol, Naproxeno.	Medicamentos

Abreviações: DT: diclorodifenildicloroetano; DDE: diclorodifeniltricloroetano; DES: dietilestilbestrol

Adaptado: (BILA; DEZOTTI, 2007; KABIR; RAHMAN; RAHMAN, 2015; CORREIA; FONTOURA, 2015).

2.2.4. Fontes de exposição

O contato com os DE ocorre por diferentes rotas e exposição. Nos corpos hídricos estão presentes resíduos da indústria, agrotóxicos, produtos de higiene, beleza e metabólitos de medicamentos. Esses compostos não são eliminados completamente pelos meios tradicionais de tratamento de águas residuais (KIM et al., 2007; SCHENCK et al., 2012). Os alimentos também são fontes de DE por conterem produtos agroquímicos utilizados na lavoura/produção como pesticidas, herbicidas, fungicidas ou por estarem armazenados em embalagens nas quais foram utilizados compostos como bisfenóis e ftalatos na sua fabricação. Alguns estão presentes no dia a dia devido a hábitos diários de higiene e beleza como sabonetes, shampoo, detergentes, cosméticos entre outros (MONNERET, 2017).

O ar que respiramos também pode conter DE como ftalatos, alquilfenóis e seus metabólitos, pesticidas, dioxinas e retardadores de chama bromados que já foram encontrados no ar e na poeira de residências (RUDEL et al., 2003). Através da placenta e do leite materno alguns DE passam para o feto ou recém-nascido sendo uma rota de exposição com efeitos deletérios que podem se manifestar somente na puberdade ou vida adulta (TSUTSUMI, 2005; ZIMMERS et al., 2014). De maneira geral as maiores exposições ocorrem por meio da inalação do pó das residências e da alimentação/água (FRYE et al., 2012), entretanto esse dado pode ser alterado devido ao estilo de vida da pessoa ou à atividade ocupacional.

2.2.5. Mecanismos de ação

Os hormônios possuem especificidade por seus receptores e essa particularidade contribui para a homeostase dos tecidos hormônio-dependentes. O fato é que, apesar dessa condição, os DE conseguem se acoplar aos receptores, ativando ou inativando os mesmos e diferentemente dos hormônios que possuem uma meia-vida conhecida, esses compostos podem permanecer inalterados acumulando-se no organismo (NOHYNEK et al., 2013). Inicialmente pensava-se que os DE exerciam suas ações exclusivamente por meio de receptores estrogênicos (ER, do inglês estrogen receptor) e receptores androgênicos (AR; do inglês androgen receptor), entretanto, com o avanço das pesquisas, tanto *in vitro* como em animais, outros receptores foram associados ao mecanismo de ação dos DE (DE

COSTER; VAN LAREBEKE, 2012). Atualmente os mecanismos de ação desses compostos envolvem, além dos receptores nucleares, receptores de membrana, receptores de neurotransmissores (serotonina, dopamina, noradrenalina), receptores órfãos, vias enzimáticas envolvidas na biossíntese e / ou metabolismo de esteroides, e numerosos outros mecanismos que afetam em especial os sistemas endócrino e reprodutor(DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009;GORE et al., 2015). Os DE podem atuar por meio de um mecanismo único ou na maioria das vezes em mecanismos múltiplos, inclusive atuando como estrogênico e antiandrogênico simultaneamente. Fitoestrógenos por exemplo possuem atividade estrogênica em baixas doses e antiestrogênicas em doses mais elevadas(WANG, 2002). As bifenilas policloradas(PCBs) atuam em ER e em receptores de neurotransmissores, assim como bisfenol A (BPA) que apesar de ter maior afinidade por ER, atua também em receptores do hormônio da tireoide (TR, do inglês thyroid receptor) e receptores do hidrocarboneto de arila (AhR, do inglês aryl hydrocarbon receptor)(JONES; MILLER, 2008;MIIRCHAŁOWICZ, 2014).

De maneira geral os mecanismos de ação dos DE envolvem mecanismos genômicos por ação direta nos receptores ou por mecanismos não genômicos por ação em uma proteína específica que controla a ação de algum hormônio em um determinado tecido ou órgão(KIYAMA; WADA-KIYAMA, 2015). Os mecanismos genômicos alteram diretamente a transcrição do DNA e envolvem os seguintes receptores: ER, TR, AR, receptor de progesterona, receptor glicocorticoide e receptor retinoide. Os não genômicos influenciam os *endpoints* da proliferação celular, liberação de hormônios peptídeos, transporte de catecolaminas e a apoptose celular(CASALS-CASAS; DESVERGNE, 2011). A ligação de um DE a um receptor hormonal (genômico) é o mecanismo de ação clássico desses compostos e contempla um número abrangente de compostos em particular os xenobióticos(COMBARNOUS; NGUYEN, 2019). A ligação de um DE ao receptor hormonal pode levar à ativação da via de sinalização como ocorre com o TCS(triclosan) que liga-se a receptores nucleares ativando-os tanto em células de humanos quanto de animais(PAUL et al., 2013). Em alguns casos pode levar à inibição como ocorre com as PCBs que podem suprimir a transcrição através da inibição dos receptores referentes ao hormônio tireoidiano(BOAS; FELDT-RASMUSSEN; MAIN, 2012).

Os mecanismos não genômicos envolvem mecanismos de ativação de receptores de membrana ou órfãos, interação com moléculas no citoplasma e mecanismos epigenéticos. Os receptores envolvidos são: receptores de neurotransmissores, receptores de membrana (estrogênicos), PPAR γ (do inglês peroxisome proliferator-activated receptor gamma), AhR, GPER (do inglês G protein coupled receptors), ERR γ (do inglês estrogen-related receptor gamma) (WETHERILL et al., 2007; VIÑAS; JENG; WATSON, 2012). Em alguns casos os DE não interagem diretamente com os receptores, mas sim com a via de sinalização hormonal próxima ao receptor. Nesse caso a estrutura do DE pode não ter semelhança com o hormônio e mesmo assim interferir na via de sinalização, como é o caso do plastificante di- (2-etilhexil)-ftalato (DEHP), um DE que atua como um composto obesogênico, interferindo nas vias de sinalização durante a adipogênese (SCHAEDLICH et al., 2018). Podem afetar a concentração de hormônio ativo livre endógeno por interferir diretamente nas proteínas transportadoras de ligação a hormônios, alterando assim a concentração de hormônios endógenos no sangue (HONG et al., 2015). Atuam também estimulando ou inibindo a expressão de um gene. OBPA, por exemplo, estimula a expressão do gene receptor de leptina e conseqüentemente a expressão desse peptídeo (PTAK; GREGORASZCZUK, 2012).

Os mecanismos não genômicos envolvem ainda os mecanismos epigenéticos. Epigenética é o estudo de mudanças hereditárias na expressão gênica que ocorrem sem uma alteração na sequência de DNA e que podem ser desencadeadas por fatores ambientais (BACCARELLI; BOLLATI, 2009). Vários mecanismos epigenéticos, incluindo metilação do DNA, modificações de histonas e expressão de microRNA (mRNA) podem alterar a função do genoma sob influência exógena de poluentes ambientais e tais modificações podem persistir mesmo na ausência dos fatores que as estabeleceram (ANWAY; LEATHERS; SKINNER, 2006; SKINNER, 2014). Foi demonstrado que a exposição neonatal ao BPA induz a hipermetilação das regiões que possuem receptores estrogênico no testículo de ratos, indicando alterações epigenéticas que interferem na espermatogênese e fertilidade desses animais (DOSHI et al., 2011). Exposição materna de camundongos ao BPA demonstraram metilações em alguns genes envolvidos no desenvolvimento do cérebro mesmo em doses consideradas baixas (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso /dia) (YAOI et al., 2008). Além disso, foi demonstrado que a exposição ao BPA altera também a expressão do RNAm, no ovário de ovelhas (NAGEL; BROMFIELD, 2013) e nas

linhagens de células placentárias humanas (miR-146a) (AVISSAR-WHITING et al., 2010) sugerindo um potencial impacto no sistema reprodutor de ambos os sexos.

Alterações epigenéticas podem ocorrer não somente em resposta ao BPA mas também a outros compostos. Essas alterações foram relatadas pela exposição ao butilparabeno (BuP), sendo observada hipermetilação do DNA em células germinativas de testículos de ratos adultos (PARK et al., 2012). Alterações ocorreram também pela exposição a TBT (tributirina) interferindo na expressão de alguns genes adipogênicos (KIRCHNER et al., 2010) e na exposição ao TCS com redução significativa dos níveis de metilação global do DNA em células de hepatocarcinoma humano (MA et al., 2013a).

Em síntese, seguemos principais mecanismos de ação dos DE:

- I. Interação direta com um receptor nuclear hormonal, levando à estimulação (agonismo) ou inibição (antagonismo) de sua atividade transcricional;
- II. Estimulação ou inibição da biossíntese de hormônios endógenos;
- III. Estimulação ou inibição da degradação hormonal endógena;
- IV. Estimulação ou inibição da proteína de ligação a hormônios endógenos, conduzindo a uma diminuição ou aumento da disponibilidade do hormônio circulante;
- V. Mecanismos epigenéticos.

Alguns exemplos de DE e os receptores com os quais eles podem interagir estão representados no Quadro 2, ao qual observamos que alguns DE, como é o caso do BPA, podem interagir com vários receptores ao mesmo tempo, como citamos anteriormente.

Referencial Teórico

Quadro 2 - Receptores hormonais associados a desreguladores endócrinos

Receptor	Desregulador Endócrino	Referência
AhR	BPA, PFOS, HPA, PCBs, Dioxina	(MIMURA; FUJII-KURIYAMA, 2003;DENISON; NAGY, 2003;ZIV-GAL et al., 2013;LONG; GHISARI; BONEFELD-JØRGENSEN, 2013;PITT et al., 2001)
AR	BPA, HPA, PCBs, TCC, Octofenol, Nonilfenol, Parabenos, Ftalatos, Benzofenonas	(GRAY JR. et al., 2000;FANG et al., 2003;AHN et al., 2008;XU et al., 2005;VINGGAARD; HNIDA; LARSEN, 2000;BONEFELD-JØRGENSEN et al., 2001;WATANABE et al., 2013)
ER	BPA, BPS, BPAF, TCC, TCS, PCBs,Nonilfenol,Paraben os, Ftalatos,Benzofenonas.	(AHN et al., 2008;GRIGNARD; LAPENNA; BREMER, 2012;XU et al., 2014;KORACH et al., 1988;LI et al., 2012;OKUBO et al., 2001;NAKAGAWA; TAYAMA, 2001).
ERRy	BPA, TCS, DDT, Benzofenonas	(SCHLECHT et al., 2004;MATSUSHIMA et al., 2007;MATSUSHIMA et al., 2007;MARTÍNEZ-PAZ et al., 2017;ZHUANG et al., 2012;ZHUANG et al., 2012)
GPER	BPA, BPAF, Ginesteina, Nonilfenol, Parabenos.	(THOMAS; DONG, 2006;LEI et al., 2019;MARCHESE; SILVA, 2012)
GR	BPA, PFOS,PCBs, Parabenos, Ftalatos	(PRASANTH; DIVYA; SADASIVAN, 2010;SALGADO-FREIRÍA; LÓPEZ-DOVAL; LAFUENTE, 2018;HU et al., 2012;SARGIS et al., 2010)
PPAR	BPA, BPS, HPA, Ftalatos, Parabenos	(YAN et al., 2014;TAXVIG et al., 2012;AHMED; ATLAS, 2016;BILITY et al., 2004)
PXR	BPA, Ftalatos, Nonilfenol, Benzofenonas	(HURST; WAXMAN, 2004;MIKAMO et al., 2003; SUI et al., 2012;SUI et al., 2018;MASUYAMA et al., 2000)
TR	PBDE,BPA,PCBs,TCS, Nonilfenol,Ftalatos	(XI; LI; SAN, 2013;ZOTA et al., 2011;ZOTA et al., 2011;BOAS et al., 2010;ZOELLER; BANSAL; PARRIS, 2005;VELDHOEN et al., 2006;VELDHOEN et al., 2006)

Abreviações: BPA: bisfenol A ;BPS: bisfenol S; PCBs: bifenila policlorada; TCS: triclosan ; PFOA: ácido perfluorooctanoico ; PFOS: ácido perfluorooctanosulfônico ; PBDE: éteres difenilos polibromado (retardantes de chama);HPA: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos;TCC : triclocarban;AhR: receptor hidrocarboneto de arila;AR: receptor de androgênio;ER: receptor de estrogênio; ERRy:receptor relacionado ao receptor estrogênico gamma;GPER: receptor acoplado a proteína G;GR:receptor glicocorticoide;PPAR: receptor ativado por proliferador de peroxissoma;PXR: receptor pregnano X e TR: receptor de hormônio da tireoide.

2.2.6. Efeitos nos organismos vivos

Pesquisas relacionam vários tipos de distúrbios causadas pela exposição aos DE. Anormalidades na função reprodutiva de ambos os sexos são as mais abordadas mas veremos a seguir que diferentes tecidos e órgãos também podem ser afetados.

2.2.6.1. Alterações na divisão celular

A divisão e a diferenciação celular são momentos importantes para a preservação e manutenção da espécie, entretanto oferece riscos de alterações celulares indesejadas durante esse processo. Quando expostas a um DE, principalmente durante o período embrionário ou na primeira infância, os danos podem ser mais significativos pelo fato da metabolização e eliminação de compostos não estarem bem desenvolvidas (BIRNBAUM; FENTON, 2003). O DES é capaz de causar câncer nos descendentes quando mães são expostas no período gestacional, com comprovação científica devidamente fundamentada (ANDERSON et al., 2000). A exposição fetal ao DES na década de 70 foi claramente associada ao adenocarcinoma vaginal o que levou pesquisadores a investigar outros compostos que poderiam estar associados a diferentes tipos de câncer, não somente quando gestantes eram expostas, mas quando as exposições ocorriam na vida adulta. Desde décadas passadas sabe-se que a exposição fetal de roedores ao DES aumenta sua suscetibilidade ao desenvolvimento de câncer mamário na idade adulta (BOYLAN; CALHOON, 1979; ROTHSCCHILD et al., 1987). Com o objetivo de estudar os efeitos da exposição perinatal aos estrogênios sintéticos no sistema reprodutor, camundongos fêmeas foram submetidos a doses variáveis de DES. O adenocarcinoma uterino foi então diagnosticado e relacionado ao tempo e à dose do tratamento. O estudo mostrou que existe uma correlação de estrogenicidade e carcinogenicidade uterina (NEWBOLD; BULLOCK; MCLACHLAN, 1990). Em 2001 um estudo semelhante foi realizado, porém, com o fitoestrôgeno gínesteina e foi observado uma incidência de adenocarcinomas do útero semelhantes aos anteriormente observados para os DES (NEWBOLD et al., 2001). A exposição a gínesteina no período gestacional em ratos já havia sido testada anteriormente e apresentou os mesmos resultados, sugerindo que um ambiente estrogênico elevado

no útero poderia aumentar o risco subsequente de câncer de mama(HILAKIVI-CLARKE et al., 1999).

Outros DE estão envolvidos em câncer de mama. Parabenos são capazes de apresentar atividade estrogênica em cultivo de células da mama(BYFORD et al., 2002).Essa classe de conservantes foi encontradaem tecido mamário de mulheres com câncer de mama,sugerindo que a utilização de parabenos como conservante poderia influenciar o surgimento desse tipo de doença(DARBRE; HARVEY, 2014). Em estudos *in vivo* com BPA, independentemente da linhagem de ratos, vias e níveis de exposição, mostraram uma suscetibilidade aumentada à neoplasia da glândula mamária que se manifesta durante a idade adulta(DURANDO et al., 2007).Ratos expostos a doses ambientalmente relevantes de BPA no período pré-natal mostram um número aumentado de hiperplasias intraductais (lesões pré-cancerosas) que surgiram durante a vida adulta(MURRAY et al., 2007).Estudos *in vivo* reportaram que mesmo em baixas doses o BPA pode acelerar o surgimento de tumores mamários e aumentar o risco de metástases(JENKINS et al., 2011).Camundongos CD-1 foram expostos no útero a baixas doses, de BPA (25 e 250 mcg / kg de peso corporal), e suas glândulas mamárias foram avaliadas em 10 dias, 1 mês e 6 meses de idade. As glândulas mamárias mostraram um aumento significativo na porcentagem de ductos, ductos terminais, brotos terminais e brotos alveolares aos 6 meses de idade e essas alterações foram associadas à carcinogênese em roedores e humanos(MARKEY et al., 2001).Associação com câncer de mama também foi verificada em exposições a TCS (GEE et al., 2008),e misturas de éteres difenílicos polibromados (PBDE, do inglês Polybrominated diphenyl ethers)(HURLEY et al., 2019).O tecido da próstata também pode sofrer alterações resultando em câncer devido a exposição ao BPA(HO et al., 2006).

Dioxinas são subprodutos da combustão de múltiplos processos industriais e é considerada um DE.O mecanismo de ação das dioxinas difere do BPA e DES por se ligar ao receptor AhR.A dioxina mais potente da série é a 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxina (TCDD) (VAN DEN BERG et al., 1998). Em estudos de cultura de células, a TCDD, ao se ligar ao AhR, interage com os receptores ER e, portanto, comporta-se como um agonista ou antagonista de estrogênio. A exposição à TCDD durante a fase gestacional altera a morfogênese da glândula mamária, estimulando a formação de células neoplásicas(FENTON et al., 2002) e em machos afeta a formação dos tecidos da próstata e da uretra(TIMMS et al., 2005).

2.2.6.2. Alterações na reprodução

O sistema reprodutor é o mais afetado pela exposição a DE e o mais estudado nas últimas décadas. No aparelho reprodutor masculino tanto a quantidade como a qualidade dos espermatozoides são afetadas comprometendo a continuidade da espécie (TOPPARI et al., 1996). Ratos Wistar machos com três semanas de idade foram expostos ao BuP por oito semanas em diferentes dosagens. A contagem de espermatozoides do grupo que recebeu a dose mais alta foi 58,2% menor quando comparados ao grupo controle. A produção diária de espermatozoides nos testículos também foi significativamente menor em todos os grupos tratados quando comparados ao controle (OISHI, 2002). A exposição ao DEHP resultou em alteração na motilidade dos espermatozoides tanto nos testes *in vitro* quanto *in vivo* (PANT et al., 2011). Em homens com possíveis problemas de fertilidade a exposição ao BPA apresentou associação com oligospermia e alterações no DNA dos espermatozoides (MEEKER et al., 2010). Outros DE como PCBs e diclorodifenildicloroetileno (DDE) também provocaram alterações na produção de espermatozoides em humanos expostos a esses compostos (DALLINGA et al., 2002; HAUSER et al., 2003;).

Com relação ao sistema reprodutor feminino os principais efeitos biológicos adversos dos DE são atribuídos à foliculogênese (SIFAKIS et al., 2017). O BPA tem sido associado a problemas de fertilidade feminina, síndrome dos ovários policísticos e endometriose (KANDARAKI et al., 2011; SOUTER et al., 2013). Um estudo experimental em animais demonstrou que esse composto reduziu o número de folículos primordiais acarretando uma falência ovariana prematura (WANG; HAFNER; FLAWS, 2014). A exposição ao ftalato DEHP em animais levou a uma diminuição no número de folículos primários e secundários e a um aumento nos folículos atrésicos (XU et al., 2010). Em mulheres, a concentração de BPA no plasma sanguíneo foi avaliada e verificou-se que a concentração média foi duas vezes maior em mulheres inférteis do que férteis, apontando uma associação significativa com a infertilidade (LAROCCA et al., 2011).

2.2.6.3. Obesidade e doenças cardiovasculares

Em 2002 um estudo revelou que a epidemia de obesidade estava de alguma maneira vinculada ao aumento de produtos químicos industriais no meio ambiente, e que não poderia ser explicada somente pela ingestão de alimentos calóricos ou pelo estilo de vida mais sedentário. Essa hipótese, de acordo com o estudo, pode estar relacionada ao fato de que o sistema endócrino desempenha um papel fundamental na regulação do metabolismo das gorduras, carboidratos e proteínas e qualquer alteração nesses processos impulsionados por hormônios, pode levar a um desequilíbrio no metabolismo (BAILLIE-HAMILTON, 2002).

Alguns DE são denominados obesogênicos, entre eles os pertencentes às classes dos parabenos, organoclorados, ftalatos, retardadores de chama, fitoestrôgenos, além de compostos como nonilfenol, DES, BPA e TBT (GRÜN; BLUMBERG, 2006; DARBRE, 2017). Vários estudos com modelos animais relacionam a exposição a DE e predisposição a ganho de peso quando ocorre a exposição a bisfenóis (IVRY DEL MORAL et al., 2016; VOM SAAL et al., 2012), retardadores de chama (PATISAUL et al., 2013) e PCBs (ARSENESCU et al., 2008). A exposição a obesogênicos é mais grave no período gestacional e estudos sugerem que os efeitos podem ser transmitidos a futuras gerações. Estudos transgeracionais mostraram que camundongos prenhes expostas ao TBT produzem descendentes com maiores depósitos de gordura, e esse fenótipo foi encontrado inclusive para a geração F3, embora não houvesse mais exposição ao composto (CHAMORRO-GARCÍA et al., 2013). Outros estudos transgeracionais mostram que o BPA e DEHP também apresentam relação com obesidade (MANIKKAM et al., 2013). Estudos epidemiológicos encontraram uma associação positiva entre a exposição ao BPA e obesidade tanto em adultos quanto em crianças (LANG et al., 2008; CALAFAT et al., 2008^a; CARWILE; VANDENBERG et al., 2010; MICHELS, 2011;). Entre 2003 e 2008, crianças de 6 a 18 anos participantes do programa nacional de saúde e nutrição dos EUA (*National Health and Nutrition Examination Survey*) foram avaliadas quanto à presença de BPA na urina. O estudo concluiu que os níveis crescentes de BPA estavam positivamente associados à obesidade, independente de idade, sexo, raça, educação dos pais ou atividade física (BHANDARI; XIAO; SHANKAR, 2013).

A obesidade é um fator de risco para doenças cardiovasculares. Artérias carótidas foram analisadas em um estudo populacional com idosos e os metabólitos de BPA e ftalatos foram dosados nos pacientes. Os dois metabólitos foram relacionados à placa aterosclerótica, sugerindo uma possível propensão para

doenças cardiovasculares(LIND; LIND, 2011).A doença arterial periférica (DAP) é uma medida subclínica da doença vascular aterosclerótica e um forte fator de risco independente para doenças cardiovasculares. Níveis de BPA urinário e doença arterial periférica foram analisados em uma amostra de adultos norte-americanos (n=745) e uma associação positiva significativa foi observada entre os níveis crescentes de BPA e DAP. Os níveis urinários de BPA foram significativamente associados a DAP, independente dos fatores de risco tradicionais para doenças cardiovasculares(SHANKAR; TEPPALA; SABANAYAGAM, 2012).Ainda sobre níveis de BPA concentrações urinárias desse DE foram analisadas em pacientes com estenose arterial coronariana grave e foram comparadas as concentrações de indivíduos sem doenças vasculares. As maiores concentrações estavam associadas a pacientes com estenose grave(DAVID et al., 2012).

2.2.6.4. Diabetes

Os receptores hormonais como os estrogênicos estão intimamente ligados ao metabolismo da glicose. Alguns DE ao se ligarem a esses receptores provocam alterações na homeostase da glicose e no mecanismo de liberação de insulina(NADAL et al., 2009).Experiências *in vivo* com ratos adultos mostraram que a exposição a 100µg/kg/peso de BPA por quatro dias induziu a resistência à insulina e intolerância à glicose (ALONSO-MAGDALENA et al., 2006).Concentrações urinárias de metabólitos de BPA e ftalato foram analisadas e comparadas ao risco de diabetes tipo 2 em um estudo caso controle com mulheres de meia idade (média 45,6 anos). Os resultados sugeriram que as exposições ao BPA e ao ftalato estavam associadas ao risco de diabetes tipo 2 nesse grupo pesquisado (SUN et al., 2014). Os resultados foram semelhantes em outro estudo realizado nos EUA,com participantes entre 18 a 74 anos (n=1455), entre 2003 e 2004,no qual altas concentrações de BPA foram associadas a diabetes(LANG et al., 2008).Em contrapartida a associação entre a concentração urinária de BPA e a prevalência de diabetes tipo 2 em coreanos (n=1210) foi avaliada em um estudo transversal e os achados concluíram que os níveis desse DE não estavam associados a um aumento na prevalência de diabetes tipo 2(KIM; PARK, 2013).Várias publicações demonstram que as células β pancreáticas de camundongos são um alvo para concentrações ambientalmente relevantes de alguns DE(ALONSO-MAGDALENA; QUESADA; NADAL, 2011).

Ilhotas pancreáticas de Langerhans intactas foram isoladas de camundongo para avaliação de cálcio intracelular das células β quando expostas a BPA e DES. O resultado demonstrou que ambos os xenoestrógenos aumentaram a frequência de oscilações de íons cálcio potencializando a ação da glicose (NADAL et al., 2000).

2.2.6.5. Alterações neurológicas

As doenças neurodegenerativas são influenciadas pelos DE devido à interferência desses compostos nos transportadores de dopamina e outros neurotransmissores (ALYEA; WATSON, 2009). A exposição em períodos de neurodesenvolvimento é certamente mais grave, e pesquisas detectaram DE na placenta e no leite materno (FRYE et al., 2012). Amostras de urina materna foram coletadas entre 25 e 40 semanas de gestação e analisadas para metabólitos de ftalato e BPA. A exposição pré-natal ao ftalato foi associada ao comprometimento social na infância, mas o mesmo não ocorreu com relação ao BPA (MODOVNIK et al., 2011). Por outro lado o BPA foi associado ao Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH) e bipolaridade em outras pesquisas (MASUO et al., 2004). Um estudo transversal em crianças coreanas demonstrou uma forte associação entre as concentrações urinárias de alguns metabólitos de ftalatos e sintomas de TDAH em crianças em idade escolar (KIM et al., 2009).

Os transtornos do espectro do autismo (TEA) compreendem um conjunto complexo de anormalidades do desenvolvimento neurológico e sua prevalência aumentou significativamente nas últimas décadas (MATSON; KOZLOWSKI, 2011). Em 2011, uma pesquisa declarou que apenas 38% dos casos de TEA eram atribuíveis a causas genéticas (HALLMAYER et al., 2011). A pergunta resultante desse estudo pode estar em hipóteses de vários autores, de que fatores ambientais podem desempenhar um papel significativo na etiologia e patogênese do TEA (RONALD; PENNELL; WHITEHOUSE, 2011; LASALLE, 2013). Apesar de pesquisas sobre as reais causas dessa doença ainda serem insipientes, distúrbios epigenéticos por exposição a DE tem sido considerados como fator de risco (GRAFODATSKAYA et al., 2010; SKINNER et al., 2014).

2.2.6.6. Alterações na função da tireoide

Os hormônios envolvidos na função da glândula tireoide são pesquisados como um dos alvos para vários DE, como o PCBs, percloratos, dioxinas, BPA, retardadores de chama, pesticidas, HPA e parabenos, podendo afetar a glândula tireoide de diferentes maneiras (MORIYAMA et al., 2002; BOAS; FELDT-RASMUSSEN; MAIN, 2012). O tecido tireoidiano está relacionado com o desenvolvimento físico, o funcionamento cognitivo e neuronal dos indivíduos, de tal maneira que a desregulação da tireoide pode ter importantes repercussões tanto na saúde física como mental (MAQBOOL et al., 2016). Pesquisas recentes com vários DE demonstraram que estes compostos são capazes de interagir com receptores TR (WENG et al., 2017; AKER et al., 2018; BERGER et al., 2018). Estudos da década de 1990 já haviam alertado para esse fato, onde os PCBs foram capazes de reduzir as concentrações de hormônios tireoidianos circulantes tanto em experimentos com animais (MORSE et al., 1993; GOLDEY et al., 1995;) como em investigações epidemiológicas (KOOPMAN-ESSEBOOM et al., 1994).

Estudos mais recentes comprovam que o aumento de distúrbios da tireoide nos últimos anos pode estar de alguma maneira associado à exposição a DE. Em um estudo com animais o BPA interferiu na ligação do hormônio da tireoide em seu respectivo receptor, suprimindo a atividade transcricional dos genes (MORIYAMA et al., 2002). Em peixe-zebra (zebrafish) foram realizados teste *in vivo* e *in vitro* e os efeitos do BPA na regulação da expressão de genes envolvidos na síntese do hormônio tireoidiano e de seus reguladores transcricionais em doses de BPA ambientalmente pertinente e também em doses muito abaixo das detectadas no plasma de lactentes. Em ambos os sistemas houve uma expressão alterada dos genes envolvidos na síntese dos hormônios tireoidianos e dos fatores transcricionais específicos da tireoide na forma dose-dependente e tempo de administração do BPA (GENTILCORE et al., 2013). Os efeitos da disfunção tireoidiana de nove análogos estruturais do BPA foram avaliados utilizando células da hipófise e da tireoide de ratos. A exposição afetou os genes responsáveis pela síntese hormonal e alguns substitutos do BPA como bisfenol F, bisfenol M e bisfenol Z apresentaram efeitos mais potentes na desregulação que o próprio BPA, o que é um fator bastante preocupante (LEE et al., 2017).

Com humanos os estudos também demonstraram relação positiva entre exposição e alterações na produção de hormônio. Na China um estudo com 3394 indivíduos acima de 40 anos foi realizado em 2009, em que os níveis urinários de

BPA foram analisados em relação à função da tireoide. A conclusão dos autores foi que as taxas de BPA na urina estavam diretamente associadas à triiodotironina (T3) sérica livre e inversamente associada ao nível sérico de hormônio tireoide estimulante (WANG et al., 2013). Adultos e adolescentes (n=1831), em um estudo realizado nos EUA, forneceram dados estatísticos suficientes para a associação inversa entre níveis de parabeno (MeP, EtP, PrP, BuP) na urina de mulheres e hormônios da tireoide e de TCS com T3 em adolescentes. Os resultados sugerem que exposições a parabeno e, potencialmente a TCS, podem estar associadas a níveis alterados de hormônios da tireoide em humanos (KOEPE et al., 2013). No Brasil uma pesquisa de base populacional foi conduzida na Cidade dos Meninos, uma vila rural localizada no município de Duque de Caxias, Estado do Rio de Janeiro, entre 2003 e 2004. No final da década de 1940, uma fábrica foi instalada nesse local para a produção de hexaclorociclohexano, DDT e outros pesticidas. A fábrica foi desativada em 1955, mas os produtos restantes foram abandonados ao ar livre fazendo com que a população local permanecesse cronicamente exposta. Os voluntários com mais de 14 anos foram convidados e 608 fizeram parte da pesquisa cujo objetivo foi determinar no soro níveis de T4 (tetraiodotironina) livre, T3 total, TSH e anticorpos antitireoidianos. Associações positivas entre exposição a DDT e T3 total, e entre DDT e T4 livre foram encontradas em mulheres que nasceram na vila. De acordo com os autores, os resultados sugerem que o DDT pode afetar o sistema da tireoide por meio de mecanismos específicos de gênero uma vez que os mesmos resultados não foram encontrados no sexo masculino (FREIRE et al., 2013).

3. Objetivos

3.OBJETIVOS

Geral:

- Identificar uma possível relação entre a síndrome do olho seco e a presença de desreguladores endócrinos na urina.

Específicos:

- Comparar os níveis na urina de 21 desreguladores entre indivíduos com olho seco e controle;
- Identificar fatores associados (idade, sexo, hábitos do cotidiano);
- Correlacionar a intensidade de sinais e sintomas de olho seco nos voluntários comparados a níveis de desreguladores na urina.

4. Material e Métodos

4.MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Pesquisa

Trata-se de um estudo observacional caso-controle aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (HCFMRP-USP). Processo HCFMRP-USP 14154/2016 em 01/12/2016 e realizado tanto no HCFMRP – USP como no Centro de Saúde Escola da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP(CSEFMRP-USP)

4.2. Participantes

O grupo com olho seco (GOS) foi composto por pacientes cadastrados no departamento de oftalmologia do HCFMRP-USP, que aceitaram participar do estudo no momento de sua consulta de rotina entre os meses de março a junho de 2017. Os pacientes fazem parte do grupo de estudos relacionados a olho seco do hospital. O grupo controle (GC) foi constituído por voluntários convidados entre funcionários do HCFMRP-USP, funcionários e moradores no entorno do CSEFMRP-USP entre os meses de julho e agosto de 2017. Os voluntários assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). No momento do convite procurou-se parear os dois grupos com relação a sexo e idade. O tamanho amostral foi n=33 para GOS e n= 21 para GC totalizando 54 indivíduos. O cálculo do tamanho da amostra usando as diferenças nos níveis médios e desvio padrão dos testes diagnósticos tradicionais para DES (osmolaridade do filme lacrimal, teste de Schirmer e pontuação da ceratite), considerando um erro tipo 1 (alfa) de 5% e poder de estudo de 80% indicam que 40 indivíduos por grupo seriam suficientes para distinguir os grupos (ALVES et al.,2014b;GARCIA et al.,2018). No entanto, para o desfecho planejado aqui (concentração de EDCs na urina), os estudos clínicos apresentam média geométrica da concentração, mediana e taxas de detecção muito distintos (CALAFAT et.al. 2010;KANG et.al.,2016;AKER et.al.,2018) não nos permitindo calcular com precisão o tamanho amostral que poderá ser reavaliado em estudos futuros.

4.3. Desenvolvimento

4.3.1. Questionários

Os voluntários responderam dois questionários:

- I. Questionário sobre uso de medicamentos, cosméticos e produtos de higiene pessoal, bem como hábitos alimentares (Apêndice) elaborado com perguntas baseadas em artigos que utilizaram questionários para avaliar a exposição ambiental a DE (LEWIS et al., 2013; LARSSON et al., 2014; NOMURA; HARNACK; ROBIEN, 2016). Aplicado em todos os voluntários pelo autor da tese.
- II. Questionário OSDI (do inglês Ocular Surface Disease Index) validado para o português (PRIGOL, 2012). O OSDI é um questionário com 12 perguntas graduadas de 0 (zero) a 4, com a pontuação total variando de 0 (zero) a 100, sendo que valores mais altos indicam maiores sintomas. Seu valor final é dado pela soma de todos os escores multiplicado por 25 e dividido pelo número de questões respondidas (SCHIFFMAN et al., 2000). Aplicado em todos os voluntários pelo autor da tese.

4.3.2. Investigação clínica ocular

A avaliação da superfície ocular foi realizada por meio de testes abaixo:

- I. Teste de Schirmer (TS): a secreção lacrimal foi medida em ambos os olhos dos indivíduos, sem uso de anestésico (Ophthalmos, São Paulo, Brasil), por meio de uma tira de 5x60mm colocada no fundo do saco conjuntival do olho por 5 minutos. A leitura da extensão úmida foi registrada.
- II. Tempo de ruptura do filme lacrimal (TFBUT em Inglês: tear film breakup time): medido pelo intervalo de tempo que decorre entre um piscar de olhos completo e a presença da primeira quebra no filme

lacrimal. Após aplicação de fluoresceína sódica a 1% (Ophthalmos, São Paulo, Brasil) no fundo do saco conjuntival, o paciente foi orientado a piscar para análise da ruptura do filme observado sob lâmpada de fenda com filtro azul de cobalto.

- III. Teste de coloração com fluoresceína sódica (CF): Realizado para a quantificação das áreas de irregularidades e desepitelização da superfície da córnea. Após a instilação de uma gota do colírio de fluoresceína sódica a 1% (Ophthalmos, São Paulo, Brasil) no fundo do saco conjuntival, a conjuntiva e a córnea foram examinadas quanto à sua integridade sob lâmpada de fenda com filtro azul e as alterações classificadas de 0 a 15. A classificação das alterações da córnea se dá pela localização e intensidade de coloração da córnea em 5 áreas diferentes. A impregnação dessas 5 áreas é quantificada por uma escala numérica em cada região, variando de 0-3 (escala de Bijsterved), na qual: 0 significa ausência de coloração, 1 coloração puntiforme, 2 coloração com pontos confluentes e 3 coloração de placas extensas. A pontuação é calculada somando os valores das 5 áreas (VAN BIJSTERVELD, 1969).
- IV. Teste de coloração com lisamina verde (CL): Realizado para a quantificação de metaplasia escamosa da superfície ocular. Após a instilação de uma gota do colírio de lisamina verde a 1% (Ophthalmos, São Paulo, Brasil) no fundo de saco conjuntival, a conjuntiva e a córnea foram examinadas à lâmpada com luz branca e as alterações classificadas de 0 a 9, levando-se em conta a intensidade e a área corada. A classificação de 0 a 9 ocorre da mesma forma citada anteriormente para coloração de fluoresceína, apenas com a diferença de que nesse caso a área é dividida em apenas 3 partes.

4.3.3. Critérios de inclusão

Os pacientes do GOS foram inseridos no grupo de acordo quando soma de pontos no questionário OSDI apresentou score >20 e mais um dos seguintes testes: teste de Schirmer <10 mm, teste do tempo de ruptura do filme lacrimal \leq 6 segundos e score de coloração com fluoresceína e lisamina >3. Para a inclusão dos pacientes

do GC foram convidados apenas aqueles cujos resultados foram negativos para olho seco em todos os testes acima citados. Voluntários do GC que, apesar dos testes negativos, apresentaram inflamação (de qualquer grau) das pálpebras, foram excluídos, bem como com doenças oculares prévias, para evitar um viés na pesquisa. Os critérios de inclusão desse tópico foram estabelecidos pelos oftalmologistas que cooperaram com a pesquisa e baseados em estudos prévios (ALVES et al., 2014b).

4.3.4. Coleta da urina

Após a inclusão dos pacientes na pesquisa, amostras de urina foram coletadas para dosagem dos DE. Os pacientes receberam frasco coletor de urina (todos do mesmo lote de fabricação) e foram instruídos a coletar da mesma forma que realizada em um exame de rotina de urina, desprezando o primeiro jato. O horário da coleta variou entre os voluntários pois foi realizado durante as consultas de rotina para pacientes com olho seco (sempre no período da manhã), e de acordo com a disponibilidade dos voluntários do grupo controle. As amostras foram imediatamente armazenadas em recipiente térmico com gelo reciclável e transferidas na sequência para freezer a -80 °C até o momento das análises. As amostras foram preparadas e analisadas segundo método desenvolvido e validado por pesquisadores do Departamento de Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP (ROCHA et al., 2018). A metodologia consiste na microextração líquido-líquido assistida por ar (AALLME: air-assisted liquid-liquid microextraction) descrita nos próximos tópicos.

4.3.5. Análise química da urina

4.3.5. Método de análise

A metodologia utilizada foi microextração líquido-líquido assistida por ar (AALLME: air-assisted liquid-liquid microextraction) para a determinação simultânea de sete bisfenóis (BPA, BPS (bisfenol S), BPAP (bisfenol AP), BPP (bisfenol P), BPF (bisfenol F), BPAF (bisfenol AF) e BPZ (bisfenol Z)); sete parabenos (MeP

(metilparabeno), EtP (etilparabeno), PrP (propilparabeno), BuP, BzP (benzilparabeno), OHMeP (ácido metil-protocatecuico) e OHEtP (ácido etil-protocatecuico)); cinco benzofenonas (BP1 (benzofenona-1), BP2 (benzofenona-2), BP3 (benzofenona-3), BP8 (benzofenona-8) e 4OHBP (4-hidroxibenzofenona)); e dois antimicrobianos TCS e TCC (triclocarban) em amostras de urina de ambos os grupos.

4.3.5.2. Preparo dos padrões e da urina sintética

Padrões analíticos dos sete bisfenóis, sete parabenos, cinco benzofenonas e dois antimicrobianos foram utilizados na análise. Como padrões internos foram utilizados BPA_d16 (2-bis (4-hidroxifenil) propano-d16), uma solução mista de padrão de parabenos (4-hidroxibenzoato de metilo-anel-13C₆, 4-hidroxibenzoato de anel-13C₆, 4-hidroxibenzoato de propilo-anel-13C₆, 4-hidroxibenzoato de butilo anel-13C₆) adquiridos da Sigma-Aldrich[®] (St. Louis, MO, EUA). As soluções estoque de cada composto e padrões interno foram preparadas em metanol e armazenados em frascos de vidro âmbar a -20°C. A urina sintética, utilizada pela ausência de um padrão de urina em branco, foi preparada com reagentes (grau analítico) obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA) e ultrassonada por 30 minutos e armazenado a -4°C até uso posterior.

Foram utilizados para microextração por AALLME a fase móvel constituída por metanol e clorofórmio adquiridos da JT Baker[®] (Phillipsburg, NJ, EUA) diclorometano e tetracloreto de carbono obtido da Sigma-Aldrich[®] (St. Louis, MO, EUA); e 1,2-dicloroetano adquirido de J.T. Baker[®] (Phillipsburg, NJ, EUA). Água deionizada de alta pureza foi obtida utilizando um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore RiOs-DITM, Bedford, MA, EUA).

4.3.5.3. Preparo das amostras

Os níveis de concentração dos DE foram determinados após hidrólise da amostra com a enzima β -glucuronidase (197000 unidades ml⁻¹, Sigma-Aldrich[®], St. Louis, MO, EUA). Para a hidrólise, foram usados de 1000U da enzima para cada 5 ml de amostra de urina. As amostras de urina foram descongeladas e

homogeneizadas, e 5 ml de urina foram transferidas para tubo de polipropileno de 15 ml acrescidos de 50 µl de solução dos padrões interno e 100 µl de solução enzimática (β -glucuronidase). As amostras foram incubadas (durante a noite por 12 horas) a uma temperatura de 37°C. A eficiência de desconjugação, nas condições mencionadas, foi de aproximadamente 100%. Para segurança das análises, os tubos de polipropileno foram previamente testados quanto a presença de BPA e outros possíveis DE como contaminantes cruzados. Os tubos foram preparados por ultrassonicação com metanol durante 2 h à temperatura ambiente, seguido de análise do extrato de metanol por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). Após a desconjugação enzimática da urina, 5ml da amostra foram diluídas com 10ml de uma solução de cloreto de sódio a 20%. Em etapa posterior, 750 µl de 1,2-dichloroethane (solvente extrator) foi rapidamente adicionado ao tubo da amostra e homogeneizado e então a mistura foi repetidamente aspirada do tubo e dispensada com uma seringa de vidro de 10 ml. Após executar um número predeterminado de ciclos de aspiração-dispersão (3 vezes), a mistura foi transferida para um tubo de fundo cônico e centrifugada a 4000 rpm por 20 minutos a 20°C. Toda a fase sedimentada (fase orgânica) foi coletada e transferida para um tubo Eppendorf usando uma micropipeta de 1,0 ml. A fase orgânica foi evaporada e o resíduo seco foi reconstituído em 200 µl de mistura metanol e água (1:1), e então injetado no sistema LC-MS/MS.

4.3.5.4. Análise instrumental

A separação e quantificação dos DE selecionados no estudo foram realizadas empregando LC-MS/MS da Thermo Fisher Scientific[®], operado com fonte de ionização por eletrospray em modo negativo. A separação cromatográfica foi realizada em coluna analítica de C18 Atlantis[®] T3, com fase móvel constituída de metanol e água. Os dados foram adquiridos e processados utilizando o software 2.0 da Thermo Fisher Scientific[®].

4.4 Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas no software JMP versão 10.0 (SAS Institute Cary, NC, EUA). A estatística descritiva foi utilizada para resumir as respostas dos questionários. A idade dos voluntários entre os grupos foi comparada usando o teste *t* Student. O teste Qui-Quadrado de Pearson foi utilizado para investigar a frequência de exposição entre grupos. Para DE presentes na urina, a média geométrica (MG) foi utilizada para expressar os níveis de cada um dos 21 DE avaliados. AMG foi escolhida devido à grande variação nos níveis de DE e por estar de acordo com varios autores (FERGUSON et al., 2015; XUE et al., 2015; ROCHA et al., 2017). As concentrações dos DE na urina foram transformadas em logaritmo de base 10 (Log_{10}) para análises de correlação entre os grupos.

Para as análises estatísticas entre os DE e os dados clínicos, utilizou-se o seguinte protocolo: 1- para dados clínicos referentes aos olhos foi utilizado o olho de maior comprometimento em relação aos testes para olho seco; 2- apenas DE com taxa de detecção superior a 50% foram inseridos (em ambos os grupos simultaneamente).

Entre os DE selecionados, para os voluntários que apresentaram níveis abaixo do limite de detecção, foi utilizado um valor igual ao LOD (Limite de detecção) dividido pela raiz quadrada de 2 ($\text{LOD} / \sqrt{2}$) para que as caselas não permanecessem vazias (HORNUNG; REED, 1990). Análises correlacionando dados clínicos dos pacientes e respostas do questionário com as concentrações de DE foram realizadas pelo teste de Spearman (IC 95%). As comparações múltiplas univariadas entre os grupos foram realizadas por meio do teste *t* ou teste de Mann-Whitney, de acordo com o tipo de distribuição dos dados. Os valores de *p* foram ajustados usando o método FDR (False Discovery Rate).

A ANOVA multivariada (MANOVA) foi aplicada para avaliar o conjunto de DE simultaneamente. Análise de variância multivariada (MANOVA) é aplicada em situações onde há diversas variáveis resposta (variáveis dependentes) e deseja-se testá-las simultaneamente como foi o nosso caso. Para essa análise levamos em conta os dados de concentração (transformados por log_{10}) de DE que tiveram taxa de detecção superior a 50% (BPA, BPS, MeP, EtP, PrP, OHMeP, BP1, BP3 e TCC). A análise multivariada testou os nove DE simultaneamente para verificar diferença entre os grupos.

Uma análise discriminante quadrática também foi realizada. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

5. Resultados

5.RESULTADOS

5.1. Questionários

Participaram deste estudo 33 voluntários (média de idade de $52,6 \pm 10,7$ anos / 90,9% do sexo feminino) no GOS e 21 voluntários (média de idade de $51,2 \pm 9,7$ anos / 80,9% do sexo feminino) no GC (total $n = 54$). Na Tabela 1 são apresentados os dados do questionário relacionados à idade, sexo, doenças associadas e medicamentos. Os grupos demonstram semelhanças quanto ao sexo, idade e fatores associados, exceto para doenças reumáticas, com maior frequência no GOS ($p < 0,0001$). Na Tabela 2 observa-se dados sobre o uso de cosméticos (olhos e face), protetor solar (rosto), contato com papel térmico no trabalho, uso de micro-ondas para cozinhar ou aquecer alimentos (em recipientes plásticos), consumo de água e bebidas (em embalagens plásticas) e de alimentos enlatados. Nenhuma diferença significativa entre os grupos GC e GOS foi observada ($p \geq 0,05$).

Resultados

Tabela 1 - Dados demográficos, comorbidades, medicações e dados clínicos nos grupos olho seco e controle.

	GOS (N=33)	GC (N=21)	Valor de p
Demográficos			
Idade média (variação)	52,6 (31-70)	51,2 (29-73)	0,62
Sexo – N (%)			0,29
Feminino	30 (90,9)	17 (80,9)	-
Masculino	3 (9,1)	4 (19,1)	-
Residência - %			
Infância	54,5 R/45,5 U	66,7 R/33,3U	0,38
Comorbidades - N (%)			
Diabetes Mellitus	5 (15,1)	2 (9,5)	0,55
Doenças reumáticas	29 (87,9)	2 (9,5)	< 0,0001*
Menopausa (mulheres)	16 (53,3)	7 (41,2)	0,42
Fumantes	2 (6,1)	0	0,25
Usuários lentes de contato	0	2 (9,5)	0,07
Cirurgia ocular prévia	3 (9,1)	0	0,16
Uso computador/tablet	3 (9,1)	4 (19)	0,29
Medicações - N (%)			
Antidepressivos	15 (45,5)	7 (33,3)	0,38
Antialérgicos	7 (21,2)	2 (9,5)	0,26
Quimioterápicos	0	0	-
Repositores hormonais	1 (3)	3 (14,3)	0,12
Dados Clínicos-média(DP)			
OSDI	38,5 (17)	7,1 (5.2)	< 0.0001*
TS	7,5 (8,9)	21,7 (9,7)	< 0.0001*
TFBUT	3,5 (2,1)	8,8 (1,9)	< 0.0001*
Dados Clínicos-mediana(IIQ)			
CF	3,5 (2-5)	0 (0-0)	< 0.0001*
CL	1 (0-3,5)	0 (0-0,5)	< 0.0013*

Abreviações - GOS:grupo olhos seco;GC:grupo controle;R:rural;U:urbano.OSDI:ocular surface disease index; TS:teste de Shimer;CF: coloração por fluoresceína;CL: coloração por Lisamina; TFBUT: tear film breakup time; Intervalo Interquartil: IIQ.

Teste estatístico:teste *t* para idade; test *t* ou Mann-Whitney para dados clínicos e qui-quadrado de Pearson para demais itens.*Valor $p < 0,05$.

Resultados

Tabela 2 - Hábitos do cotidiano dos grupos olho seco e controle.

	Grupo Olho Seco		Controle		Valor de p
	0-2 x/ semana	3-7 x/ semana	0-2 x/ semana	3-7 x/ semana	
Uso N (%)					
Filtro solar (face)	22 (66,7)	11(33,3)	14 (66,6)	7 (33,3)	1,0
Cosméticos (face)	25 (77,8)	8 (24,2)	17 (80,9)	4 (19)	0,65
Cosméticos (olho)	29 (87,9)	4 (12,1)	18 (85,7)	3 (14,3)	0,82
Papel térmico (trabalho)	33 (100)	-	21 (100)	-	-
Microondas *	29 (87,9)	4 (12,1)	15 (71,4)	6 (28,6)	0,13
Consumo N (%)					
Água (garrafas plásticas)	17 (51,5)	16 (48,5)	10(18,5)	11 (20,4)	0,78
Sucos (garrafas plásticas)	30 (90,9)	3 (9,09)	18 (85,7)	3 (14,3)	0,55
Enlatados	33 (100)	-	21 (100)	-	-

Notas: 1: 0-2 vezes por semana e 2: 3-7 vezes por semana. Estatísticas realizadas pelo teste qui-quadrado. Valores significativos $p < 0,05$. * Apenas em utensílios plásticos.

5.2. Concentração Urinária dos Desreguladores Endócrinos

A media geométrica (MG) das concentrações urinárias (MG apresentada em ng.ml^{-1}) e taxas de detecção dos DE no GOS e GC são apresentadas na Tabela 3. Alguns DE estavam abaixo do LOD do método em todos os participantes: BPAP, BPP, BPZ, BP8. Em contrapartida, outros foram detectados em todos os participantes nos dois grupos: MeP, PrP e BP1. Do número total de DE em nove encontramos uma taxa de detecção acima de 50% em ambos os grupos, e estes foram utilizados para realizar as análises uni e multivariada. As comparações univariadas entre os grupos mostraram diferenças significativas para o parabeno OHMeP ($p = 0,0189$) e para o antimicrobiano TCC ($p = 0,0081$).

Resultados

Tabela 3 - Concentrações urinárias em $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ (média geométrica (MG)/variação) e taxas de detecção dos desreguladores endócrinos no grupo olho seco (N = 33) e grupo controle (N= 21).

DE	GOS MG (variação)	GC MG (variação)	Valor de p	Detecção %	
				GOS	GC
Bisfenóis					
BPA	0,97 (<LOD-40,12)	1,84 (<LOD -71,44)	0,73	84,8(28)	95,2(20)
BPS	3,56 (0,12-413,75)	2,63 (<LOD -114,71)	0,74	100(33)	95,2(20)
BPAP	<LOD	<LOD	-	-	-
BPP	<LOD	<LOD	-	-	-
BPF	0,21(<LOD -40,14)	0,21(<LOD -223,24)	NC	30,3(10)	23,8(5)
BPAF	0,078 (<LOD -0,52)	0,14 (<LOD -0,62)	NC	18,2(6)	42,8(9)
BPZ	<LOD	<LOD	-	-	-
Parabenos					
MeP	67,17(7,45-2300,6)	35,72 (2,21-6312,24)	0,19	100(33)	100(21)
EtP	1,13 (<LOD -55,6)	0,91(<LOD -36,15)	0,18	93,9(31)	95,2(20)
PrP	2,80 (0,65-40,3)	2,84 (0,61-73,66)	0,88	100(33)	100(21)
BuP	0,024(<LOD -0,43)	0,03 (<LOD -1,55)	NC	6,1(2)	9,5(2)
BzP	<LOD	<LOD	-	-	-
OHMeP	11,51(1,07 -188,57)	3,16 (<LOD -547,05)	0,0189*	100(33)	90,5(19)
OHEtP	0,80 (<LOD -5,71)	0,23 (<LOD -2,29)	NC	27,3(9)	52,4(11)
Benzofenonas					
BP1	24,64(0,17-1834,93)	12,32 (0,4-303,23)	0,39	100(33)	100(21)
BP2	0,19(<LOD-177,93)	0,20 (<LOD -138,58)	NC	75,7(25)	47,6(10)
BP3	0,79 (0,39-1436,18)	5,66 (<LOD -294,25)	0,88	100(33)	90,5(19)
BP8	<LOD	<LOD	-	-	-
4OHBP	0,08 (<LOD -7,57)	0,09 (<LOD -29,27)	NC	39,4(13)	42,8(9)
Antimicrobianos					
TCS	0,49(<LOD-212,97)	1,33 (<LOD -70,72)	NC	33,3(11)	52,4(11)
TCC	0,008 (<LOD -8,09)	0,16 (<LOD - 9,25)	0,0081*	60,6(20)	90,5(19)

Abreviaturas: - GOS: grupo olho seco;GC:grupo controle;MG: média geométrica, NC: não calculado; < LOD: menor que LOD (limite de detecção), DE: desreguladores endócrinos; BPA: bisfenol A; BPS: bisfenol S; BAP: bisfenol AP, BP: bisfenol P; BF: bisfenol F, BPAF: bisfenol AF, BPZ: bisfenol Z; MeP: metilparabeno; EtP: etilparabeno; PrP: propilparabeno; BuP: butilparabeno; BzP: benzilparabeno; OHMeP: ácido metil-protocatecuico; OHEtP: ácido etil-protocatecuico); BP1: benzofenona-1; BP2: benzofenona-2; BP3: benzofenona-3; 4OHBP: 4-hidroxibenzofenona; TCS: triclosan e TCC: triclocarban.

Notas: LOD variou de 0,001 a 0,3 $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ dependendo do composto (ver valores individuais em Rocha et al (ROCHA; DE OLIVEIRA; BARBOSA, 2018); Teste Mann-Whitney; * valor $p < 0,05$.

Resultados

5.3. Concentrações Urinárias de Desreguladores Endócrinos e Dados Clínicos

Os dados clínicos (do olho com maior comprometimento) e níveis de DE na urina dos voluntários de ambos os grupos foram analisados. Nos voluntários do grupo controle todos os testes clínicos foram realizados pela oftalmologista Dra. Leidiane Adriano, pesquisadora do nosso departamento, e os dados dos voluntários do grupo olho seco foram obtidos por meio de um prontuário. O questionário OSDI foi aplicado no momento da coleta de urina sempre pelo mesmo pesquisador. No GOS devido a dados de prontuário, o valor de N para cada item avaliado sofreu variação. O resultado da análise estatística dos dados clínicos com relação aos níveis de DE na urina está demonstrado nas tabelas 4A e 4B. Encontramos uma correlação positiva significativa entre MeP, EtP e OHMeP e escore CF ($p = 0,03$; $0,02$; $0,03$ respectivamente); OHMeP e OSDI ($p = 0,003$) e TCC com TFBUT ($p = 0,01$). Correlação negativa significativa entre EtP e OHMeP com TS ($0,01$; $0,03$ respectivamente); OHMeP com TFBUT ($0,03$); TCC com OSDI, CF e CL ($0,01$; $0,002$; $0,03$, respectivamente).

Tabela 4A - Concentrações urinárias em $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ de desreguladores endócrinos nos voluntários da pesquisa comparados a dados clínicos. Os dados são apresentados da seguinte maneira: correlação de Spearman / valor de p (intervalo de confiança).

DE	OSDI (n=54)	TS (n=53)
BPA	-0,03/0,85 (-0,29;0,24)	0,03/0,83 (-0,24;0,30)
BPS	0,07/0,61 (-0,20;0,33)	-0,21/0,13 (-0,45;0,06)
MeP	0,14/0,30 (-0,13;0,39)	-0,21/0,13 (-0,45;0,06)
EtP	0,19/0,17 (-0,08;0,43)	-0,34/0,01*(-0,56;-0,07)
PrP	0,10/0,49 (-0,17;0,36)	-0,12/0,39 (-0,39;0,15)
OHMeP	0,40/0,003*(0,15;0,60)	-0,30/0,03*(-0,53;-0,03)
BP1	0,12/0,38 (-0,15;0,37)	-0,25/0,08 (-0,49;0,02)
BP3	0,02/0,89 (-0,25;0,29)	-0,14/0,33 (-0,39;0,13)
TCC	-0,34/0,01*(-0,56;-0,08)	0,27/0,05 (0,0;0,50)

Abreviações - DE: desreguladores endócrinos; BPA: bisfenol A; BPS: bisfenol S; MeP: metil parabeno; EtP: etil parabeno; PrP: propil parabeno; OHMeP: acidometilprotocatecuico; BP1: benzofenona 1; BP3: benzofenona 3; TCC: triclocarban; OSDI: Ocular Surface Disease Index; TS: teste de Schirmer. Spearman test/ *p value <0.05

Resultados

Tabela 4 B - Concentrações urinárias em $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ de desreguladores endócrinos nos voluntários da pesquisa comparados a dados clínicos. Os dados são apresentados da seguinte maneira: correlação de Spearman / valor de p (intervalo de confiança).

DE	TFBUT (n=52)	CF (n=41)	CL (n=42)
BPA	0,12/0,39(-0,16;0,38)	0,04/0,81(-0,27;0,34)	0,005/0,97(-0,30;0,31)
BPS	0,08/0,59(-0,20;0,34)	-0,07/0,65(-0,37;0,24)	0,197/0,23(-0,12;0,47)
MeP	-0,17/0,24(-0,42;0,10)	0,33/0,03*(0,02;0,58)	0,11/0,47(-0,20;0,40)
EtP	-0,17/0,24(-0,42;0,10)	0,35/0,02*(0,05;0,60)	0,30/0,05 (0,004;0,55)
PrP	-0,17/0,23(-0,42;0,10)	0,09/0,55 (-0,22;0,39)	-0,18/0,26(-0,46;0,13)
OHMeP	-0,30/0,03*(-0,53;-0,03)	0,32/0,03*(0,01;0,57)	0,20/0,19(-0,11;0,47)
BP1	-0,01/0,95(-0,28;0,26)	-0,03/0,83(-0,33;0,28)	0,18/0,25(-0,13;0,46)
BP3	0,17/0,23(-0,11;0,42)	-0,11/0,47(-0,40;0,20)	0,11/0,47(-0,20;0,40)
TCC	0,36/0,01*(0,10;0,58)	-0,45/0,002*(-0,66;-0,17)	-0,34/0,03*(-0,58;-0,05)

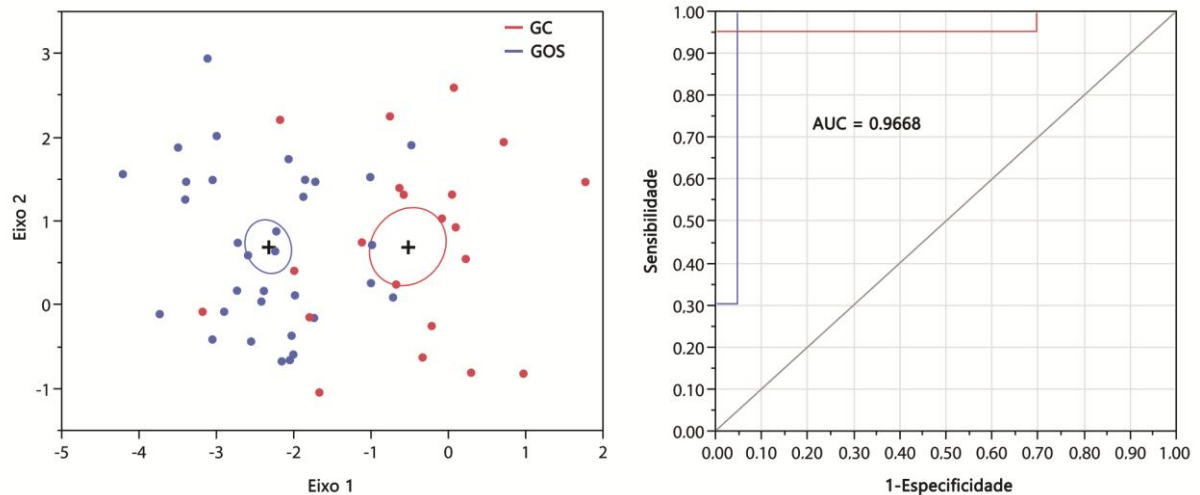
Abreviações - DE: desreguladores endócrinos; BPA: bisfenol A; BPS: bisfenol S; MeP: metilparabeno; EtP: etilparabeno; PrP: propilparabeno; OHMeP: acidometilprotocatecuico; BP1: benzofenona 1; BP3: benzofenona 3; TCC: triclocarban; CF: teste coloração de fluoresceína; CL: teste de coloração com lisamina e TFBUT: tear film break up time test. Spearman test/ *p value <0.05

5.4 – Análise de Variância Multivariada entre os Grupos

A análise MANOVA indicou diferença significativa entre os grupos usando o traço de Pillai (0,446, $F = 3,93$, $p = 0,0099$). A função discriminante quadrática classificou corretamente 94,4% dos indivíduos em seus grupos (20/21 para controles e 31/33 para olho seco). A área sob a curva ROC (Receiver Operator Characteristic) foi de 0,9668A (Figura 1).

Resultados

Figura 1 - Mapa de discriminação dos indivíduos com olhos seco e controle (a esquerda). Os limites indicam o intervalo de confiança desse grupo. Os números dos eixos X e Y (canônico 1 e 2, respectivamente) indicam a distância geométrica da análise discriminante entre os grupos. Curva ROC (direita) (Características operacionais do receptor), revelando a frequência de discriminação entre os grupos. A área sob a curva (AUC) mostra a porcentagem de discriminação correta, associando sensibilidade e especificidade.



Abreviação: Grupo controle:GC; grupo olho seco:GOS.
Fonte: Autor

5.5 –Concentrações de Desreguladores Endócrinos do Grupo Controle Comparados a Outros Países.

Os dados obtidos em estudos realizados em diversos países relacionados a presença de DE na urina (somente de adultos) foi comparado com dados obtidos no nosso estudo nos indivíduos controle (tabela 5). Optamos por relacionar apenas o grupo controle para evitar possíveis vieses com a doença do olho seco. Essa comparação auxilia o entendimento do nível de exposição da população brasileira frente a vários DE. Observamos que os valores obtidos são semelhantes a outros estudos realizados em países com clima, estilo de vida e hábitos bem distintos.

Resultados

Tabela 5 - Estudos referentes a concentração (média geométrica) de desreguladores endócrinos na urina de adultos medidos em $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ em diversos países.

DE	Amostra	MG	Detecção	País	Referência	
BPA	21 ^a	1,84	95,2	Brasil	NossoEstudo	
	42	0,36	74,0	EUA	(YE et al., 2015)	
	720	3,59	-	Itália	(GALLOWAY et al., 2010)	
	1870	1,90	99,8	Coréia	(KIM et al., 2011)	
	537 ^b	1,90	92,6	EUA	(CALAFAT et al., 2008a)	
	109	2,23	100	China	(GAO et al., 2016)	
	50	1,90	92,0	Brasil	(ROCHA et al., 2016)	
	MeP	21 ^a	35,72	100	Brasil	NossoEstudo
2548		56,40	99,1	EUA	(CALAFAT et al., 2010)	
30		10,20	100	EUA	(WANG; KANNAN, 2013a)	
2541		116,00	97,7	Coréia	(KANG et al., 2016)	
100		15,20	100	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)	
109		6,50	100	China	(MA et al., 2013b)	
261		19,00	100	Bélgica	(DEWALQUE; PIRARD; CHARLIER, 2014)	
EtP		21 ^a	0,91	95,2	Brasil	NossoEstudo
	30	0,87	100	EUA	(WANG; KANNAN, 2013a)	
	2541	24,70	97,2	Coréia	(KANG et al., 2016)	
	100	2,00	87,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)	
	109	1,89	100	China	(MA et al., 2013b)	
	261	2,10	96,6	Bélgica	(DEWALQUE; PIRARD; CHARLIER, 2014)	
	PrP	21 ^a	2,84	100	Brasil	NossoEstudo
		2541	11,00	96,7	Coréia	(KANG et al., 2016)
100		6,20	72,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)	
109		3,57	100	China	(MA et al., 2013b)	
261		1,50	83,1	Bélgica	(DEWALQUE; PIRARD; CHARLIER, 2014)	
BuP		21 ^a	0,03	9,5	Brasil	NossoEstudo
	100	1,20	46,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)	
	109	0,06	60,0	China	(MA et al., 2013b)	
	2541	1,13	83,5	Coréia	(KANG et al., 2016)	
	OHMeP	21 ^a	3,16	100	Brasil	Nosso Estudo
30		12,30	100	EUA	(WANG; KANNAN, 2013a)	
OHEtP	21 ^a	0,23	52,4	Brasil	NossoEstudo	
	30	4,71	100	EUA	(WANG; KANNAN, 2013a)	
	100	2,10	87,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)	

Continua...

Resultados

Continuação

Tabela 5 - Estudos referentes a concentração (média geométrica) de desreguladores endócrinos na urina de adultos medidos em $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ em diversos países.

DE	Amostra	MG	Detecção	País	Referência
BP1	21 ^a	12,32	100	Brasil	Nosso Estudo
	100	0,28	57,0	China	(ZHANG et al., 2013)
	34	1,33	91,2	Tunisia	(JIMÉNEZ-DÍAZ et al., 2016)
	100	2,00	78,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)
BP2	21 ^a	0,20	47,6	Brasil	Nosso Estudo
	100	1,60	40,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)
BP3	21 ^a	5,66	90,5	Brasil	Nosso Estudo
	100	0,26	25,0	China	(ZHANG et al., 2013)
	34	1,10	64,7	Tunisia	(JIMÉNEZ-DÍAZ et al., 2016)
	30	15,70	100	EUA	(WANG; KANNAN, 2013b)
	26	0,98	96,0	China	(WANG; KANNAN, 2013b)
	261	1,30	82,8	Bélgica	(DEWALQUE; PIRARD; CHARLIER, 2014)
40HBP	21 ^a	0,09	42,8	Brasil	Nosso Estudo
	100	0,19	61,0	China	(ZHANG et al., 2013)
	100	2,10	23,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)
	30	0,33	93,0	EUA	(WANG; KANNAN, 2013b)
	26	0,08	77,0	China	(WANG; KANNAN, 2013b)
TCS	21 ^a	1,33	52,4	Brasil	Nosso Estudo
	537 ^b	10,30	74,6	EUA	(CALAFAT et al., 2008b)
	1870	1,68	92,6	Coréia	(KIM et al., 2011)
	209	0,40	80,0	China	(YIN; WEI; SHI, 2016)
	100	8,00	71,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)
TCC	21 ^a	0,16	90,5	Brasil	Nosso Estudo
	100	0,60	4,0	Grécia	(ASIMAKOPOULOS; THOMAIDIS; KANNAN, 2014)
	209	0,40	99,0	China	(YIN; WEI; SHI, 2016)

Abreviações - DE: desreguladores endócrinos; BPA: bisfenol A; MeP: metilparabeno; EtP: etilparabeno; PrP: propilparabeno; BuP: butilparabeno; OHMeP: ácido metil-protocatecúico; OHEtP: ácido etil-protocatecúico; BP1: benzofenona 1; BP2: benzofenona 2; BP3: benzofenona 3; 4OHBP: 4-hidroxibenzofenona; TCS: triclosan; TCC: triclocarban. Nota - a: grupo controle do nosso estudo; b: maiores de 60 anos.

5. Discussão

6.DISCUSSÃO

A exposição a contaminantes ambientais pelos seres vivos é inevitável no contexto atual. Para seres humanos, dependendo do local de moradia, de condições socioeconômicas ou culturais a exposição ocorre em maior ou menor grau, mas sempre está presente. Esse estudo buscou, em um primeiro momento, entender hábitos do cotidiano dos voluntários, bem como as doenças que apresentavam, para dimensionar o grau de exposição a alguns compostos e possíveis doenças associadas. Comparados os grupos, os resultados obtidos por meio do questionário aplicado apontaram hábitos semelhantes no estilo de vida, no uso de medicamentos e doenças associadas, com exceção à presença de doenças reumáticas, que acometem mais os voluntários do GOS, entretanto, esse dado era previsível, pois essa condição é um fator de risco para olho seco (TAYLOR; LIGHTMAN, 2011). Alguns voluntários viviam em áreas rurais, todavia, apresentavam os hábitos alimentares e de uso de produtos de higiene e beleza semelhantes. O questionário aplicado não foi capaz de encontrar nos hábitos dos voluntários diferenças significativas entre os grupos, mas observamos uma distinção entre os grupos de mais de 94% através da curva ROC quando analisamos os níveis de DE encontrados. O questionário, entretanto, auxiliou no entendimento de como os voluntários estão expostos aos DE, porém, necessita de ajustes em um estudo futuro para que a dimensão da exposição possa ser melhor explorada.

Em um segundo momento do estudo, 21 DE, que estão presentes no cotidiano das pessoas e possíveis de serem detectados foram quantificados na urina dos voluntários. Ao analisarmos as concentrações dos DE encontramos diferenças significativas entre os grupos com relação a dois compostos: um na classe dos conservantes parabeno (OHMeP) e outro na classe dos antimicrobianos (TCC). Alguns DE não foram encontrados em nenhum voluntário por estarem abaixo do limite de detecção do método, já outros estiveram presentes em todos os voluntários de ambos os grupos, como caso dos parabenoMeP, EtP e da benzofenona BP1. Os parabenoMeP e EtP são os conservantes mais utilizados em formulações cosméticas, de higiene e medicamentos, o que justifica sua detecção elevada. ABP1 é amplamente utilizada em formulações com filtro solar, e em um país tropical como o Brasil, o uso de filtros solares é expressivo.

Os parabenos são produzidos pela esterificação do ácido para-hidroxibenzoico com álcool na presença de catalisadores e utilizados como conservantes há várias décadas, devido ao baixo custo de produção, amplo espectro de ação e alta estabilidade com relação ao pH. Inicialmente utilizado em produtos farmacêuticos e cosméticos, atualmente seu uso é tão amplo que podemos encontrá-los em alimentos, cupons fiscais e lenços umedecidos e de acordo com alguns autores, a maior rota de exposição são os cosméticos e produtos de higiene (GUO; KANNAN, 2013; BŁEDZKA; GROMADZIŃSKA; WASOWICZ, 2014; LIAO; KANNAN, 2014). Podem entrar em contato direto com o olho por meio de colírios, soluções de limpeza de lentes de contato e cosméticos em geral. Possuem atividade estrogênica ligando-se principalmente a receptores ER, entretanto podem se ligar a outros como ERR e AR (OKUBO et al., 2001; SATOH et al., 2005; WATANABE et al., 2013). Se comparados aos estrogênios naturais possuem atividade estrogênica relativamente fraca, entretanto, possuem atividade desreguladora endócrina. Devido ao seu uso constante, pesquisas comprovam que estão presentes no tecido mamário e podem estar associados ao câncer de mama (BARR et al., 2012; DARBRE; HARVEY, 2014; NOWAK et al., 2018). Para alguns autores existe a hipótese de que o número desproporcional de câncer de mama feminino no quadrante superior externo da mama, que é a área para a qual os cosméticos para as axilas são direcionados, se deve à exposição aos parabenos (DARBRE, 2001; DARBRE, 2004). Foram detectados além do tecido mamário, no sangue, placenta, leite materno, fluido seminal e urina (SCHLUMPF et al., 2010; YAMAMOTO et al., 2011), e dessa forma, por estarem presentes no corpo de maneira generalizada afetam diferentes órgãos. Estudos relatam associações entre exposição a parabenos e alterações reprodutivas (hipermetilação do DNA) e distúrbios no sistema imune e neurológico (DIAMANTI-KANDARAKIS et al., 2009; MEEKER et al., 2010; PARK et al., 2012).

O OHMeP é produto da metabolização por hidroxilação através de enzimas esterases do MeP, portanto, um metabólito do MeP (OKAMOTO et al., 2008; ABBAS et al., 2010; WANG; KANNAN, 2013a). Em nosso estudo o OHMeP foi encontrado em 100% dos indivíduos do GOS e em 90,5% no GC apresentando níveis mais elevados no GOS. Com relação a MG expressa em $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ o valor obtido foi quase 4 vezes maior no GOS comparado ao GC (11,51 e 3,16 respectivamente). Os estudos de biomonitoramento de metabólitos de parabenos ainda são escassos, porém importantes para nos fornecer uma ideia mais segura da exposição pelo fato de que

podemos não encontrar o parabeno original que pode ter sido convertido em seu metabólito no momento da coleta. Em um estudo realizado com crianças e adultos nos EUA os metabólitos OHMeP e OHEtP foram determinados em amostras de urina, eliminados poucas horas após a exposição. A concentração de OHMeP variou de 0,05 a 39,5 ng.ml⁻¹ com MG de 5,09 ng.ml⁻¹ nas crianças (n=40) e de 1,57 a 94,2 ng.ml⁻¹ com MG de 12,3 ng.ml⁻¹ para adultos (n=30) (WANG; KANNAN, 2013c). Em nosso estudo encontramos valores próximos aos encontrados no estudo acima (para adultos) no GOS (11,51 ng.ml⁻¹). O GC ficou mais próximo do que os autores encontraram nas crianças (3,16 ng.ml⁻¹). Apesar de encontrarmos o OHMeP em 100% no GOS e um pouco mais de 90% no GC, observamos que o MeP também foi detectado em 100% dos indivíduos, o que nos faz pensar em uma exposição contínua na qual temos o MeP antes da metabolização (fruto de exposição recente), e também de seu metabólito OHMeP resultante do processo de hidroxilação realizado após algumas horas de exposição.

Os compostos MeP e OHMeP em níveis elevados no GOS pode sinalizar uma maior produção de radicais livres nos diversos tecidos do corpo, inclusive no tecido ocular, o que é um fator de risco para o desenvolvimento do olho seco. Em um estudo após um mês de aplicações diárias em células da pele humana com formulações contendo MeP, observou-se a diminuição da capacidade de proliferação dos queratinócitos e alteração da morfologia celular. Os resultados obtidos sugerem que a exposição ao MeP por meio da aplicação de formulações tópicas, resulta em persistência e acúmulo de MeP no tecido e pode influenciar o envelhecimento e a diferenciação dos queratinócitos pelo estresse oxidativo (ISHIWATARI et al., 2007). Em outro estudo os queratinócitos também foram expostos a MeP, porém associado a raios UV. A produção de ON e a peroxidação lipídico celular foram medidas. Os resultados indicaram que a exposição a MeP pode ter efeitos nocivos na pele humana quando exposta à luz solar devido ao estresse oxidativo (HANDA et al., 2006). Concentrações urinárias de OHMeP estão intimamente correlacionadas com níveis de 8OHDG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) que é um marcador de estresse oxidativo (RAVANAT et al., 1998; ASIMAKOPOULOS et al., 2016). O estresse oxidativo constante pode estar envolvido na patogenia do olho seco como vimos anteriormente. Se considerarmos que tecido ocular está em constante exposição a raios UV, o uso de produtos contendo parabenos pode potencializar o estresse oxidativo provocado pelos raios solares.

Os parabenos também podem causar efeitos nocivos em células como adipócitos alterando a produção de lipídeos. Exposição a parabenos, inclusive MeP, em tecidos causam alterações morfológicas nos adipócitos durante a sua diferenciação principalmente por alterar processos de adipogênese onde estão envolvidos receptores PPAR γ (HU et al., 2012; TAXVIG et al., 2012). Quando pré-adipócitos murinos 3T3-L1 foram expostos a MeP, EtP, PrP, BuP e BzP, alterações morfológicas ocorreram, resultando em acúmulo de lipídeos intracelulares (HU et al., 2013). Considerando a importância da produção de lipídeos nas glândulas de meibômio e conseqüentemente para a homeostase do filme lacrimal, os parabenos podem ter um papel importante na etiologia do olho seco.

Estudos tanto *in vitro* como *in vivo*, demonstram que os parabenos podem se ligar tanto a ER α quanto ER β (BLAIR et al., 2000; BYFORD et al., 2002; WATANABE et al., 2013), entretanto podem também inibir enzimas envolvidas no metabolismo dos estrogênios como sulfotransferase (SULT), citocromo P450 (CYP) e UDP-glucuronosiltransferase (UGT) de tal forma a interferir na homeostase dos tecidos regulados por esses hormônios (POLLOCK et al., 2017). A exposição em animais (fêmeas) a MeP, EtP, PrP, iso-PrP e BuP acarretou o aumento do peso das glândulas suprarrenais e a diminuição do peso da glândula tireoide, apesar de não ter sido observado aumento do peso corporal (VO et al., 2010). A alteração no peso das glândulas suprarrenais pode afetar a produção de estrógeno e testosterona, uma vez que esse órgão sintetiza hormônios sexuais na parte do córtex da glândula. A estrogenicidade dos parabenos bem como alterações nas concentrações de hormônios sexuais foram constatadas em outros estudos (OKUBO et al., 2001; DARBRE et al., 2002; DARBRE et al., 2003; AKER et al., 2016), incluindo estudos com seus metabólitos (LEMINI et al., 1997; LEMINI et al., 2003).

Acrescido à estrogenicidade, os parabenos apresentam também atividade antiandrogênica pela ligação a receptores AR (SATO et al., 2005). São capazes de inibir a produção de testosterona chegando a reduzir a atividade desse hormônio em 40% no caso de exposição a MeP (CHEN et al., 2007; WATANABE et al., 2013). Desde décadas passadas, pesquisadores já apontavam que distúrbios hormonais estariam de certa forma associados à SOS (SATO; SULLIVAN, 1994; SULLIVAN et al., 1998). Atualmente estudos confirmam as pesquisas realizadas no passado quanto ao papel significativo dos hormônios, principalmente estrógenos e testosterona, na patologia do olho seco (ROCHA et al., 2000; WICKHAM et al., 2000; GUPTA et al.,

2005;TRUONG et al., 2014;SCHRÖDER et al., 2016;SULLIVAN et al., 2018). Diante do fato de que não somente os parabens, mas também outros DE diminuem a produção de hormônios sexuais, presume-se que a exposição constante a esses compostos possa ser, de alguma maneira, prejudicial para tecidos oculares.

Em relação aos antimicrobianos, encontramos uma associação positiva entre os grupos com relação ao TCC, composto comumente adicionado a uma ampla gama de produtos para uso pessoal e doméstico, incluindo sabonetes em barra, cremes dentais, detergentes, loções de limpeza de pele e higiene, roupas e brinquedos(HALDEN et al., 2017). Acredita-se que a exposição cutânea a produtos para cuidados pessoais seja a principal via de exposição humana ao TCC (YE et al., 2006), muito embora a água possa ser uma fonte importante, uma vez que estudos apontam a presença em larga escala desse DE nos corpos hídricos (HALDEN; PAULL, 2005;CHU; METCALFE, 2007;SAPKOTA; HEIDLER; HALDEN, 2007). A presença de TCC em testes de biomonitoramento apresenta algumas variações de acordo com o país de origem da pesquisa. Em um estudo com 209 adultos na China, o TCC foi detectado na urina de 99% dos voluntários (YIN; WEI; SHI, 2016) enquanto nos EUA, um estudo em larga escala entre 2013 a 2014, apontou taxa de detecção em torno de 36%(YE et al., 2016). Interessante observar um estudo realizado no Canadá no qual apenas 4% dos indivíduos apresentavam TCC na urina e segundo os autores esse fato talvez estivesse relacionado ao estilo de vida dos canadenses que evitam o uso de produtos químicos(HAINES et al., 2017). Nosso estudo apresentou taxas de detecção de 60% no grupo GOS e 90% no GC. Apesar de não encontrarmos diferenças significativas entre os grupos com relação ao uso de cosméticos e produtos de higiene (via questionário) os voluntários do GC apresentam níveis mais elevados em relação ao GOS ($p=0.0081$), provavelmente pelo uso mais acentuado de produtos de higiene e beleza.

No GC a MG encontrada para o TCC foi 20 vezes maior que no GOS, apesar dos níveis máximos encontrados não apresentarem grandes diferenças (8,09 GOS e 9,25 GC). O fato de encontrarmos níveis mais elevados no GC nos levou a aprofundar as buscas por informações bibliográficas mais minuciosas sobre como agem os compostos antimicrobianos com atividade desreguladora, em especial TCC. O mecanismo de ação do TCC apresenta algumas particularidades com relação a outros DE, pois apesar de apresentar atividade estrogênica, mesmo que fraca, segundo alguns autores(YUEH et al., 2012;TARNOW et al., 2013;HENRY; FAIR,

2013;HENRY; FAIR, 2013;HUANG et al., 2014), a atividade androgênica, devido à ligação a receptores AR, é que merece ser analisada. A influência do TCC em receptores AR foi avaliada em diversos estudos e constatou-se que esse composto age de maneira diferente em relação a outros DE. Em 2007 um estudo observou que o TCC não competia com o hormônio endógeno pela ligação ao receptor AR, mas potencializava a atividade transcricional induzida por andrógeno, mediada por AR, *in vitro* e *in vivo*. Para os autores, o TCC em relação à ação da modulação do hormônio tem um efeito positivo, e não inibitório, e concluíram que o TCC pertence a um novo tipo de DE que atua de maneira diferente da maioria dos DE (CHEN et al., 2008). A hipótese de que o TCC atua como um novo tipo de DE por não apresentar propriedades agonistas ou antagonistas intrínsecas, mas por potencializar os efeitos androgênicos nas células-alvo foi descrita por outros autores(AHN et al., 2008;CHRISTEN et al., 2010). A exposição de TCC em ratos Sprague-Dawley induziu hiperplasia de órgãos sexuais acessórios na ausência de alterações histológicas qualitativas significativas. Na presença de níveis fisiológicos de andrógenos endógenos ocorreu um aumento dos efeitos androgênicos demonstrando que esse composto realmente atua de maneira diferente dos outros DE(DULEBA et al., 2011).

Pesquisas com exposição ao TCC e seus análogos ainda são escassas se comparadas a outros DE. O antimicrobiano TCS apresenta um número muito superior de pesquisas publicadas e poderia servir de base para o entendimento do mecanismo de ação do TCC, porém existem diferenças significativas na estrutura química desses compostos o que pode tornar arriscado estabelecer uma relação entre eles quanto à ação nos receptores AR. O TCC pertence à classe química das carbanilidas, com uma molécula de ureia entre dois anéis aromáticos, enquanto o TCS é um éter difenílico com oxigênio ligando os anéis, e portanto apresentam propriedades e mecanismos de ação distintos(WITORSCH; THOMAS, 2010;ROCHESTER et al., 2017).

Considerando que a testosterona regula a expressão de milhares de genes nas glândulas lacrimais e modulam a lipogênese nas glândulas de meibômio(SCHIRRA et al., 2006;SCHIRRA et al., 2006;SULLIVAN et al., 2009), podemos entender o papel relevante desse hormônio na homeostase do tecido ocular. O fato de o TCC potencializar os efeitos androgênicos nas células pode, de maneira hipotética, auxiliar a formação da lágrima. Ao observarmos os resultados encontrados quando investigamos os níveis de DE na urina e cruzamos com dados clínicos entre os grupos, notamos que os níveis de MeP, EtP e OHMeP estavam

relacionados significativamente com dados clínicos relativos a um maior comprometimento com relação ao quadro de olho seco, em contrapartida, níveis de TCC se mostraram associados significativamente com menor comprometimento do olho seco. TCC são DE com ações agonistas da testosterona (CHEN, et al., 2008). Essa bioatividade androgênica do TCC, associada a níveis mais elevados nos indivíduos controle em comparação aos portadores de olho seco, sugerem a hipótese de que nesse caso em particular possa existir um DE com um efeito protetor contra o surgimento do olho seco em indivíduos saudáveis.

Esse estudo demonstrou, por meio da análise de DE na urina de pacientes com SOS comparados a controles, que a exposição a alguns compostos pode alterar a produção de lágrimas devido ao mecanismo de ação desreguladora, mas que no caso do TCC essa característica não foi observada. Apesar de inúmeros estudos em todo mundo abordarem a exposição a DE associadas a doenças, ainda temos muitas questões a serem elucidadas. Nosso trabalho analisou apenas 21 DE em um universo amplo de compostos comprovadamente ou com suspeita de desregulação endócrina, e para se ter uma ideia da dimensão a que estamos nos referindo, a cada ano são somados novos compostos com capacidade de alterar o sistema endócrino. Nos EUA um instituto de pesquisa sem fins lucrativos, fundado por Theo Colborn (TEDX: The Endocrine Disruptor Exchange), utiliza métodos de revisão sistemática desenvolvidos pelo Programa Nacional de Toxicologia dos EUA para informar sobre os danos causados por produtos químicos. O Instituto constantemente atualiza uma lista com mais de mil compostos químicos (1.484 em setembro de 2018) comprovadamente DE ou com potencial de ser. A lista pode ser vista no site do instituto pelo link <https://endocrinedisruption.org/>.

As consequências da presença constante desses compostos no cotidiano das pessoas e as doenças relacionadas à exposição tem preocupado gestores de saúde pública de tal maneira que já existem pesquisas que visam avaliar os gastos relativos a esse tipo de exposição. Apesar desses cálculos não serem precisos, e com certeza, difíceis de serem realizados, alguns pesquisadores avaliaram esses custos para a União Europeia (UE). Os custos foram estimados e associados à exposição a DE na UE seguindo uma abordagem de ponderação de evidências. O resultado surgiu multiplicando-se o número de casos de doenças atribuíveis à exposição a DE com o custo unitário associado a cada doença. O custo médio anual foi de 163 bilhões de euros (1,28% do produto interno bruto da UE) (TRASANDE et al., 2016). Em se

tratando de saúde pública são gastos que poderiam ser minimizados com maiores informações sobre o assunto e criação de políticas de redução ou proibição do uso de tais compostos. Diante disso, cresce a importância de estudos relacionados aos DE, principalmente pelo fato de termos muitas perguntas ainda sem respostas como por exemplo, o limiar para os efeitos dos DE. Em termos toxicológicos, para uma avaliação de risco se faz necessário um limiar para uma resposta toxicológica abaixo da qual não se espera que ocorra um efeito adverso. A comunidade científica não determinou o limiar para DE. Outra pergunta bastante complexa procura resposta: qual a ação dos DE quando estão associados? É provável que mesmo em baixas doses individuais, onde não encontramos efeitos adversos, na somatória os danos sejam relevantes.

Esse estudo analisou coleta única de urina o que pode ser considerada uma fragilidade a ser corrigida em estudos futuros, em como a avaliação do índice de massa corporal uma vez que os DE se acumulam no tecido adiposo. Outro fator a ser considerado é a possibilidade de analisarmos os DE em outras matrizes simultaneamente como a saliva e a lágrima para comparações com a urina. Com relação ao questionário de hábitos do cotidiano questões mais elaboradas precisam ser definidas a fim de estabelecer parâmetros para diferenciar uma exposição atípica no dia da coleta de uma exposição contínua. Em estudos futuros poderiam ser analisados profissionais expostos diariamente a DE como os que trabalham com tintas, vernizes, esmaltes, corantes, papel térmico entre outros.

Esperamos que esse estudo seja o precursor de outros envolvendo a exposição a DE e doenças oculares, e que pesquisas mais robustas sejam realizadas com o TCC para reforçar a teoria de que esse composto apresenta um mecanismo de ação diferente dos demais.

7. Conclusão

7.CONCLUSÃO

Nosso estudo demonstrou associações significativas entre os níveis urinários dos parabenos MeP, EtP, OHMeP e maior comprometimento do olho seco. Por outro lado observou que aos níveis de TCC foram associados ao menor comprometimento, de acordo com dados clínicos. Esses achados sugerem que os parabenos podem ser associados à SOS, da mesma forma que o TCC pode estar gerando um “efeito protetor” com relação à homeostase ocular. Essas observações indicam que a exposição aos DE pode ser incluída na investigação de causas e fatores de risco para olho seco no contexto clínico e em estudos epidemiológicos. Estudos mais abrangentes e a longo prazo são necessários para confirmar os achados resultantes dessa pesquisa.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

A. POLYZOS, S. et al. The Emerging Role of Endocrine Disruptors in Pathogenesis of Insulin Resistance: A Concept Implicating Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Current Molecular Medicine**, v. 12, n. 1, p. 68–82, 2012.

ABBAS, S. et al. Metabolism of parabens (4-hydroxybenzoic acid esters) by hepatic esterases and UDP-glucuronosyltransferases in man. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, v. 25, n. 6, p. 568–577, 2010.

AHMED, S.; ATLAS, E. Bisphenol S- and bisphenol A-induced adipogenesis of murine preadipocytes occurs through direct peroxisome proliferator-activated receptor gamma activation. **International Journal Of Obesity**, v. 40, p. 1566, 2016.

AHN, K. C. et al. In vitro biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its analogs, and triclosan in bioassay screens: Receptor-based bioassay screens. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 9, p. 1203–1210, 2008.

AKER, A. M. et al. Phenols and parabens in relation to reproductive and thyroid hormones in pregnant women. **Environmental Research**, v. 151, p. 30–37, 2016.

AKER, A. M. et al. Associations between maternal phenol and paraben urinary biomarkers and maternal hormones during pregnancy: A repeated measures study. **Environment International**, v. 113, p. 341–349, 1 abr. 2018.

ALONSO-MAGDALENA, P. et al. The estrogenic effect of bisphenol a disrupts pancreatic β -cell function in vivo and induces insulin resistance. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 1, p. 106–112, 2006.

ALONSO-MAGDALENA, P.; QUESADA, I.; NADAL, A. Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 7, n. 6, p. 346–353, 2011.

ALVES, M. et al. Is dry eye an environmental disease? **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 77, n. 3, p. 193–200, 2014a.

ALVES, M. et al. Comparison of diagnostic tests in distinct well-defined conditions related to dry eye disease. **PLoS ONE**, v. 9, n. 5, 2014b.

ALYEA, R. A.; WATSON, C. S. Differential regulation of dopamine transporter function and location by low concentrations of environmental estrogens and 17 β -estradiol. **Environmental health perspectives**, v. 117, n. 5, p. 778–783, 2009.

ANDERSON, L. M. et al. Critical Windows of Exposure for Children's Health: Cancer in Human Epidemiological Studies and Neoplasms in Experimental Animal Models Lucy. **Environmental Health**, v. 108, n. June, p. 573–594, 2000.

ANDRADE, A. S. et al. Alpha-lipoic acid restores tear production in an animal model of dry eye. **Experimental Eye Research**, v. 120, p. 1–9, 2014.

ANWAY, M. D.; LEATHERS, C.; SKINNER, M. K. Endocrine Disruptor Vinclozolin Induced Epigenetic Transgenerational Adult-Onset Disease. **Endocrinology**, v. 147, n. 12, p. 5515–5523, 2006.

ARSENESCU, V. et al. Polychlorinated biphenyl-77 induces adipocyte differentiation

and proinflammatory adipokines and promotes obesity and atherosclerosis.

Environmental health perspectives, v. 116, n. 6, p. 761–768, 2008.

ASIMAKOPOULOS, A. G. et al. Urinary biomarkers of exposure to 57 xenobiotics and its association with oxidative stress in a population in Jeddah, Saudi Arabia.

Environmental Research, v. 150, p. 573–581, 2016.

ASIMAKOPOULOS, A. G.; THOMAIDIS, N. S.; KANNAN, K. Widespread occurrence of bisphenol A diglycidyl ethers, p-hydroxybenzoic acid esters (parabens), benzophenone type-UV filters, triclosan, and triclocarban in human urine from Athens, Greece. **Science of the Total Environment**, v. 470–471, p. 1243–1249, 2014.

AUGUSTIN, A. J. et al. Oxidative reactions in the tear fluid of patients suffering from dry eyes. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 233, n. 11, p. 694–698, 1995.

AVISSAR-WHITING, M. et al. Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 29, n. 4, p. 401–406, 2010.

AZZAROLO, A. M.; EIHAUSEN, H.; SCHECHTER, J. Estrogen prevention of lacrimal gland cell death and lymphocytic infiltration. **Experimental Eye Research**, v. 77, n. 3, p. 347–354, 2003.

BACCARELLI, A.; BOLLATI, V. Epigenetics and environmental chemicals. **Current opinion in pediatrics**, v. 21, n. 2, p. 243–251, abr. 2009.

BAILLIE-HAMILTON, P. F. Chemical Toxins: A Hypothesis to Explain the Global Obesity Epidemic. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 8, n. 2, p. 185–192, 1 abr. 2002.

BARR, L. et al. Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. **Journal of Applied Toxicology**, v. 32, n. 3, p. 219–232, 2012.

BERGER, K. et al. Associations of maternal exposure to triclosan, parabens, and other phenols with prenatal maternal and neonatal thyroid hormone levels. **Environmental Research**, v. 165, p. 379–386, 2018.

BERN, H. ET AL. 1992. Statement from the work session on chemically-induced alterations in sexual development: the wildlife/human connection. pp 1-8 in Chemically-Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection. **Eds. Colborn T. and Cleme**. p. 1–8, 1992.

BHANDARI, R.; XIAO, J.; SHANKAR, A. Urinary bisphenol a and obesity in US children. **American Journal of Epidemiology**, v. 177, n. 11, p. 1263–1270, 2013.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Desreguladores endócrinos no meio ambiente: efeitos e consequências. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 651–666, jun. 2007.

BILITY, M. T. et al. Activation of Mouse and Human Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) by Phthalate Monoesters. **Toxicological Sciences**, v. 82, n. 1, p. 170–182, 13 ago. 2004.

BIRNBAUM, L. S. State of the science of endocrine disruptors. **Environmental**

Health Perspectives, v. 121, n. 4, p. 1306695, 2013.

BIRNBAUM, L. S.; FENTON, S. E. Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 4, p. 389–394, 2003.

BLAIR, R. M. et al. The Estrogen Receptor Relative Binding Affinities of 188 Natural and Xenochemicals : Structural Diversity of Ligands. **Toxicological Sciences**, v. 153, p. 138–153, 2000.

BŁEDZKA, D.; GROMADZIŃSKA, J.; WASOWICZ, W. Parabens. From environmental studies to human health. **Environment International**, v. 67, p. 27–42, 2014.

BOAS, M. et al. Childhood exposure to phthalates: associations with thyroid function, insulin-like growth factor I, and growth. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 10, p. 1458–1464, out. 2010.

BOAS, M.; FELDT-RASMUSSEN, U.; MAIN, K. M. Thyroid effects of endocrine disrupting chemicals. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 355, p. 240–248, 2012.

BONEFELD-JØRGENSEN, E. C. et al. Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity. **Toxicology**, v. 158, n. 3, p. 141–153, 14 fev. 2001.

BONZI, R. S. Meio século de Primavera silenciosa: um livro que mudou o mundo. **Desenvolvimento e Meio Ambiente**, v. 28, p. 207–215, 2013.

BOYLAN, E. S.; CALHOON, R. E. Mammary tumorigenesis in the rat following prenatal exposure to diethylstilbestrol and postnatal treatment with 7,12-dimethylbenz[a] anthracene. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 5, n. 6, p. 1059–1071, 1 nov. 1979.

BRUGHA, R.; GRIGG, J. Urban Air Pollution and Respiratory Infections. **Paediatric Respiratory Reviews**, v. 15, n. 2, p. 194–199, 2014.

BYFORD, J. R. et al. Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 80, p. 49–60, 2002.

CALAFAT, A. M. et al. Exposure of the U.S. population to Bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 1, p. 39–44, 2008a.

CALAFAT, A. M. et al. Urinary concentrations of triclosan in the U.S. population: 2003-2004. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 3, p. 303–307, 2008b.

CALAFAT, A. M. et al. Urinary concentrations of four parabens in the U.S. Population: NHANES 2005-2006. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 5, p. 679–685, 2010.

CARWILE, J. L.; MICHELS, K. B. Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003-2006. **Environmental Research**, v. 111, n. 6, p. 825–830, 2011.

CASALS-CASAS, C.; DESVERGNE, B. Endocrine Disruptors: From Endocrine to Metabolic Disruption. **Annual Review of Physiology**, v. 73, n. 1, p. 135–162, 2011.

- CASTRO-CORREIA, C.; FONTOURA, M. A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 10, n. 2, p. 186–192, 2015.
- CASTRO, J. S. DE et al. Prevalence and Risk Factors of self-reported dry eye in Brazil using a short symptom questionnaire. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 2076, 2018.
- ČEJKOVÁ, J. et al. Nitric oxide synthase induction and cytotoxic nitrogen-related oxidant formation in conjunctival epithelium of dry eye (Sjögren's syndrome). **Nitric Oxide**, v. 17, n. 1, p. 10–17, 2007.
- CHAMORRO-GARCÍA, R. et al. Transgenerational inheritance of increased fat depot size, stem cell reprogramming, and hepatic steatosis elicited by prenatal exposure to the obesogen tributyltin in mice. **Environmental health perspectives**, v. 121, n. 3, p. 359–366, 2013.
- CHEN, J. et al. Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 221, n. 3, p. 278–284, 2007.
- CHEN, J. et al. Triclocarban enhances testosterone action: A new type of endocrine disruptor? **Endocrinology**, v. 149, n. 3, p. 1173–1179, 2008.
- CHRISTEN, V. et al. Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity in vitro. **Chemosphere**, v. 81, n. 10, p. 1245–1252, 2010.
- CHU, S.; METCALFE, C. D. Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1164, n. 1–2, p. 212–218, 2007.
- COMBARNOUS, Y.; NGUYEN, T. M. D. Comparative Overview of the Mechanisms of Action of Hormones and Endocrine Disruptor Compounds. **Toxics**, v. 7, n. 1, p. 5, 2019.
- CORREIA, C. C.; FONTOURA, M. A influência da exposição ambiental a disruptores endócrinos no crescimento e desenvolvimento de crianças e adolescentes. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**, v. 10, n. 2, p. 1–7, 2015.
- CRAIG, J. P. et al. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. **Ocular Surface**, v. 15, p. 276–283, 2017.
- D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. Ddt (Dicloro Difenil Tricloroetano): Toxicidade E Contaminação. **Química Nova**, v. 25, n. 6a, p. 995–1002, 2002.
- DALLINGA, J. W. et al. Decreased human semen quality and organochlorine compounds in blood. **Human Reproduction**, v. 17, n. 8, p. 1973–1979, 1 ago. 2002.
- DAMSTRA, T. et al. Chapter 1: Executive Summary. **International Program on Chemical Safety. Global Assessment of Endocrine-disrupting Chemicals**, p. 1–4, 2002.
- DANA, R. et al. Estimated Prevalence and Incidence of Dry Eye Disease Based on Coding Analysis of a Large, All-age United States Health Care System. **American**

Journal of Ophthalmology, v. 202, p. 47–54, 2019.

DARBRE, P. D. Underarm cosmetics are a cause of breast cancer. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 10, n. 5, p. 389–393, 2001.

DARBRE, P. D. et al. Oestrogenic activity of isobutylparaben in vitro and in vivo. **Journal of Applied Toxicology**, v. 22, n. 4, p. 219–226, 2002.

DARBRE, P. D. et al. Eostrogenic activity of benzylparaben. **Journal of Applied Toxicology**, v. 23, n. 1, p. 43–51, 2003.

DARBRE, P. D. Underarm cosmetics and breast cancer. **European Journal of Cancer Prevention**, v. 13, n. 2, 2004.

DARBRE, P. D. Endocrine Disruptors and Obesity. **Current obesity reports**, v. 6, n. 1, p. 18–27, 2017.

DARBRE, P. D.; HARVEY, P. W. Parabens can enable hallmarks and characteristics of cancer in human breast epithelial cells: A review of the literature with reference to new exposure data and regulatory status. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 9, p. 925–938, 2014.

DAVID, M. et al. Urinary Bisphenol A Concentration and Risk of Future Coronary Artery Disease in Apparently Healthy Men and Women. **Circulation**, v. 125, n. 12, p. 1482–1490, 2012.

DE COSTER, S.; VAN LAREBEKE, N. Endocrine-disrupting chemicals: Associated disorders and mechanisms of action. **Journal of Environmental and Public Health**, v. 2012, 2012.

DENG, R. et al. Oxidative stress markers induced by hyperosmolarity in primary human corneal epithelial cells. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, 2015.

DENISON, M. S.; NAGY, S. R. a Ctivation of the a Ryl H Ydrocarbon R Eceptor By S Tructurally D Iverse E Xogenous and E Ndogenous C Hemicals . **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 309–334, 2003.

DEWALQUE, L.; PIRARD, C.; CHARLIER, C. Measurement of Urinary Biomarkers of Parabens, Benzophenone-3, and Phthalates in a Belgian Population. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–13, 2014.

DIAMANTI-KANDARAKIS, E. et al. Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. **Endocrine Reviews**, v. 30, n. 4, p. 293–342, 2009.

DONTHINENI, P. R. et al. Incidence, demographics, types and risk factors of dry eye disease in India: Electronic medical records driven big data analytics report I. **Ocular Surface**, n. February, p. 0–1, 2019.

DOSHI, T. et al. Hypermethylation of estrogen receptor promoter region in adult testis of rats exposed neonatally to bisphenol A. **Toxicology**, v. 289, n. 2–3, p. 74–82, 2011.

DULEBA, A. J. et al. Effects of triclocarban on intact immature male rat: Augmentation of androgen action. **Reproductive Sciences**, v. 18, n. 2, p. 119–127, 2011.

DURANDO, M. et al. Prenatal bisphenol A exposure induces preneoplastic lesions in

- the mammary gland in Wistar rats. **Environmental health perspectives**, v. 115, n. 1, p. 80–86, 2007.
- FANG, H. et al. Study of 202 Natural, Synthetic, and Environmental Chemicals for Binding to the Androgen Receptor. **Chemical Research in Toxicology**, v. 16, n. 10, p. 1338–1358, 2003.
- FENTON, S. E. et al. Persistent Abnormalities in the Rat Mammary Gland following Gestational and Lactational Exposure to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). **Toxicological Sciences**, v. 67, n. 1, p. 63–74, 2002.
- FERGUSON, K. K. et al. Urinary phthalate metabolites and biomarkers of oxidative stress in pregnant women: a repeated measures analysis. **Environmental health perspectives**, v. 123, n. 3, p. 210–216, 2015.
- FREIRE, C. et al. Long-term exposure to organochlorine pesticides and thyroid status in adults in a heavily contaminated area in Brazil. **Environmental Research**, v. 127, p. 7–15, 2013.
- FRY, D. M. Reproductive effects in birds exposed to pesticides and industrial chemicals. **Environmental health perspectives**, v. 103 Suppl, n. Suppl 7, p. 165–171, 1995.
- FRYE, C. et al. Endocrine disrupters: A review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behaviour and neuroendocrine systems. **Journal of Neuroendocrinology**, v. 24, n. 1, p. 144–159, 2012.
- GALLOWAY, T. et al. Daily bisphenol a excretion and associations with sex hormone concentrations: Results from the InCHIANTI adult population study. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 11, p. 1603–1608, 2010.
- GAO, C. et al. Bisphenol A in Urine of Chinese Young Adults: Concentrations and Sources of Exposure. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 96, n. 2, p. 162–167, 2016.
- GARCIA, D.M. et al., Is Sjogren's syndrome dry eye similar to dry eye caused by other etiologies? Discriminating different diseases by dry eye tests. **PLoS One**, v.13, n.12, 2018.
- GEE, R. H. et al. Oestrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n. 1, p. 78–91, 1 jan. 2008.
- GENTILCORE, D. et al. Bisphenol A interferes with thyroid specific gene expression. **Toxicology**, v. 304, p. 21–31, 2013.
- GEYER, H. J. et al. Bioaccumulation and Occurrence of Endocrine-Disrupting Chemicals (EDCs), Persistent Organic Pollutants (POPs), and Other Organic Compounds in Fish and Other Organisms Including Humans. **B.Bekerv.2**, parte 1, 2000.
- GIESEKE, J. et al.. Resolução do Parlamento Europeu sobre um quadro abrangente da União Europeia em matéria de desreguladores endócrinos. p. 1–7, 2019.
Disponível em: em
[https://oeil.secure.europarl.europa.eu/oeil/popups/ficheprocedure.do?lang=en&reference=2019/2683\(RSP\)](https://oeil.secure.europarl.europa.eu/oeil/popups/ficheprocedure.do?lang=en&reference=2019/2683(RSP)).

- GIPSON, I. K.; INATOMI, T. Cellular origin of mucins of the ocular surface tear film. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 438, p. 221–227, 1998.
- GOLDEY, E. S. et al. Developmental Exposure to Polychlorinated Biphenyls (Aroclor 1254) Reduces Circulating Thyroid Hormone Concentrations and Causes Hearing Deficits in Rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 135, n. 1, p. 77–88, 1995.
- GOLEBIEWSKI, B. et al. Does endogenous serum oestrogen play a role in meibomian gland dysfunction in postmenopausal women with dry eye? **The British journal of ophthalmology**, p. 218–222, 2016.
- GORE, A. C. et al. Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. **Endocrine reviews**, v. 36, n. 6, p. 593–602, 2015.
- GRAFODATSKAYA, D. et al. Autism Spectrum Disorders and Epigenetics. **Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry**, v. 49, n. 8, p. 794–809, 2010.
- GRAY JR., L. E. et al. Perinatal Exposure to the Phthalates DEHP, BBP, and DINP, but Not DEP, DMP, or DOTP, Alters Sexual Differentiation of the Male Rat. **Toxicological Sciences**, v. 58, n. 2, p. 350–365, 2000.
- GRIGNARD, E.; LAPENNA, S.; BREMER, S. Weak estrogenic transcriptional activities of Bisphenol A and Bisphenol S. **Toxicology in Vitro**, v. 26, n. 5, p. 727–731, 2012.
- GRÜN, F.; BLUMBERG, B. Environmental Obesogens: Organotins and Endocrine Disruption via Nuclear Receptor Signaling. **Endocrinology**, v. 147, n. 6, p. 50–55, 2006.
- GUILLETTE, L. J. et al. Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida. **Environmental Health Perspectives**, v. 102, n. 8, p. 680–688, 1994.
- GUO, Y.; KANNAN, K. A Survey of Phthalates and Parabens in Personal Care Products from the United States and Its Implications for Human Exposure. **Environmental Science & Technology**, v. 47, n. 24, p. 14442–14449, 2013.
- GUPTA, P. D. et al. Sex hormone receptors in the human eye. **Survey of Ophthalmology**, v. 50, n. 3, p. 274–284, 2005.
- HAINES, D. A. et al. An overview of human biomonitoring of environmental chemicals in the Canadian Health Measures Survey: 2007–2019. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 220, n. 2, Part A, p. 13–28, 2017.
- HALDEN, R. U. et al. The Florence Statement on Triclosan and Triclocarban. **Environmental health perspectives**, v. 125, n. 6, p. 64501, 2017.
- HALDEN, R. U.; PAULL, D. H. Co-Occurrence of Triclocarban and Triclosan in U.S. Water Resources. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 6, p. 1420–1426, 2005.
- HALLMAYER, J. et al. Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. **Archives of general psychiatry**, v. 68, n. 11, p. 1095–1102,

2011.

HANDA, O. et al. Methylparaben potentiates UV-induced damage of skin keratinocytes. **Toxicology**, v. 227, n. 1–2, p. 62–72, 2006.

HAUSER, R. et al. The relationship between human semen parameters and environmental exposure to polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE. **Environmental health perspectives**, v. 111, n. 12, p. 1505–1511, 2003.

HENRY, N. D.; FAIR, P. A. Comparison of in vitro cytotoxicity, estrogenicity and anti-estrogenicity of triclosan, perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid. **Journal of Applied Toxicology**, v. 33, n. 4, p. 265–272, 2013.

HILAKIVI-CLARKE, L. et al. Maternal exposure to genistein during pregnancy increases carcinogen-induced mammary tumorigenesis in female rat offspring. **Oncology reports**, v. 6, n. 5, p. 1089–1095, 1999.

HO, S.M. et al. Developmental exposure to estradiol and bisphenol A increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. **Cancer research**, v. 66, n. 11, p. 5624–5632, 2006.

HONG, H. et al. Human sex hormone-binding globulin binding affinities of 125 structurally diverse chemicals and comparison with their binding to androgen receptor, estrogen receptor, and α -Fetoprotein. **Toxicological Sciences**, v. 143, n. 2, p. 333–348, 2015.

HORNUNG, R. W.; REED, L. D. Estimation of Average Concentration in the Presence of Nondetectable Values. **Applied Occupational and Environmental Hygiene**, v. 5, n. 1, p. 46–51, 1990.

HU, P. et al. Effects of Parabens on Adipocyte Differentiation. **Toxicological Sciences**, v. 131, n. 1, p. 56–70, 2012.

HU, P. et al. Effects of parabens on adipocyte differentiation. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 131, n. 1, p. 56–70, 2013.

HUANG, H. et al. The in Vitro estrogenic activities of triclosan and triclocarban. **Journal of Applied Toxicology**, v. 34, n. 9, p. 1060–1067, 2014.

HURLEY, S. et al. A breast cancer case-control study of polybrominated diphenyl ether (PBDE) serum levels among California women. **Environment International**, v. 127, p. 412–419, 2019.

HURST, C. H.; WAXMAN, D. J. Environmental phthalate monoesters activate pregnane X receptor-mediated transcription. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 199, n. 3, p. 266–274, 2004.

INATOMI, T. et al. Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 37, n. 8, p. 1684–1692, 1996.

ISHIWATARI, S. et al. Effects of methyl paraben on skin keratinocytes. **Journal of Applied Toxicology**, v. 27, n. 1, p. 1–9, 2007.

IVRY DEL MORAL, L. et al. Obesogen effects after perinatal exposure of 4,4'-

sulfonyldiphenol (Bisphenol S) in C57BL/6 mice. **Toxicology**, v. 357–358, p. 11–20, 2016.

JENKINS, S. et al. Chronic oral exposure to bisphenol A results in a nonmonotonic dose response in mammary carcinogenesis and metastasis in MMTV-erbB2 mice. **Environmental health perspectives**, v. 119, n. 11, p. 1604–1609, 2011.

JIMÉNEZ-DÍAZ, I. et al. Science of the Total Environment Urinary levels of bisphenol A, benzophenones and parabens in Tunisian women: A pilot study. **Science of the Total Environment**, v. 562, p. 81–88, 2016.

JONES, D. C.; MILLER, G. W. The effects of environmental neurotoxicants on the dopaminergic system: A possible role in drug addiction. **Biochemical Pharmacology**, v. 76, n. 5, p. 569–581, 2008.

KABIR, E. R.; RAHMAN, M. S.; RAHMAN, I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 40, n. 1, p. 241–258, 2015.

KANDARAKI, E. et al. Endocrine Disruptors and Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Elevated Serum Levels of Bisphenol A in Women with PCOS. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 96, n. 3, p. E480–E484, 2011.

KANG, H. S. et al. Urinary concentrations of parabens and their association with demographic factors: A population-based cross-sectional study. **Environmental Research**, v. 146, n. October 2017, p. 245–251, 2016.

KIM, B.-N. et al. Phthalates Exposure and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in School-Age Children. **Biological Psychiatry**, v. 66, n. 10, p. 958–963, 2009.

KIM, K. et al. Urinary concentrations of bisphenol A and triclosan and associations with demographic factors in the Korean population. **Environmental Research**, v. 111, n. 8, p. 1280–1285, 2011.

KIM, K.; PARK, H. Association between urinary concentrations of bisphenol A and type 2 diabetes in Korean adults: A population-based cross-sectional study. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 216, n. 4, p. 467–471, 2013.

KIM, S. D. et al. Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters. **Water Research**, v. 41, n. 5, p. 1013–1021, 2007.

KIRCHNER, S. et al. Prenatal Exposure to the Environmental Obesogen Tributyltin Predisposes Multipotent Stem Cells to Become Adipocytes. **Molecular Endocrinology**, v. 24, n. 3, p. 526–539, 2010.

KIYAMA, R.; WADA-KIYAMA, Y. Estrogenic endocrine disruptors: Molecular mechanisms of action. **Environment International**, v. 83, p. 11–40, 2015.

KOEPPE, E. S. et al. Relationship between urinary triclosan and paraben concentrations and serum thyroid measures in NHANES 2007-2008. **The Science of the total environment**, v. 445–446, p. 299–305, 2013.

KOJIMA, T. et al. Age-Related Dysfunction of the Lacrimal Gland and Oxidative Stress. **AJPA**, v. 180, p. 1879–1896, 2012.

- KOOPMAN-ESSEBOOM, C. et al. Effects of Dioxins and Polychlorinated Biphenyls on Thyroid Hormone Status of Pregnant Women and Their Infants. **Pediatric Research**, v. 36, n. 4, p. 468–473, 1994.
- KORACH, K. S. et al. Estrogen receptor-binding activity of polychlorinated hydroxybiphenyls: Conformationally restricted structural probes. **Molecular Pharmacology**, v. 33, n. 1, p. 120–126, 1988.
- KRUK, J. et al. The role oxidative stress in the pathogenesis of eye diseases: Current status and a dual role of physical activity. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 3, p. 241–257, 2016.
- KUMAR, V. et al. Estrogen Modulates Corneal Nociception and Maintains Corneal Homeostasis in Rat Eye. **Cornea**, v. 0, n. 0, p. 1–7, 2017.
- KWIATKOWSKI, C. F. et al. Twenty-Five Years of Endocrine Disruption Science: Remembering Theo Colborn. **Environmental health perspectives**, v. 124, n. 9, p. A151–A154, 2016.
- LANDRIGAN, P. J.; FULLER, R. Global health and environmental pollution. **International Journal of Public Health**, v. 60, n. 7, p. 761–762, 2015.
- LANG, I. A. et al. Association of Urinary Bisphenol A Concentration With Medical Disorders and Laboratory Abnormalities in Adults. **Jama**, v. 300, n. 11, p. 1303–1310, 2008.
- LAROCCA, J. et al. Effects of in utero exposure to Bisphenol A or diethylstilbestrol on the adult male reproductive system. **Birth defects research. Part B, Developmental and reproductive toxicology**, v. 92, n. 6, p. 526–533, 2011.
- LARSSON, K. et al. Exposure determinants of phthalates, parabens, bisphenol A and triclosan in Swedish mothers and their children. **Environment International**, v. 73, p. 323–333, 2014.
- LASALLE, J. M. Epigenomic strategies at the interface of genetic and environmental risk factors for autism. **Journal of human genetics**, v. 58, n. 7, p. 396–401, 2013.
- LEE, S. et al. Thyroid hormone disrupting potentials of bisphenol A and its analogues - in vitro comparison study employing rat pituitary (GH3) and thyroid follicular (FRTL-5) cells. **Toxicology in Vitro**, v. 40, p. 297–304, 2017.
- LEI, B. et al. Bisphenol AF exerts estrogenic activity in MCF-7 cells through activation of Erk and PI3K/Akt signals via GPER signaling pathway. **Chemosphere**, v. 220, p. 362–370, . 2019.
- LEMINI, C. et al. Estrogenic Effects of p-Hydroxybenzoic Acid in CD1 Mice. **Environmental Research**, v. 75, n. 2, p. 130–134, 1997.
- LEMINI, C. et al. In vivo and in vitro estrogen bioactivities of alkyl parabens. **Toxicology and Industrial Health**, v. 19, n. 6, p. 69–79, 2003.
- LEMP, M. DEWS Definition and Classification The Definition and Classification of Dry Eye Disease : v. 5, n. 2, p. 75–92, 2007. Disponível em: <https://www.tearfilm.org/pdfs/OM%20-%20Definition%20&%20Classification.pdf>
- LEWIS, R. C. et al. Predictors of urinary bisphenol A and phthalate metabolite

concentrations in Mexican children. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2390–2398, 2013.

LI, Y. et al. Bisphenol AF , and Zearalenone through Estrogen Receptor α and β in Vitro. **Environmental Research Perspectives**, v. 120, n. 7, p. 1029–1036, 2012.

LIAO, C.; KANNAN, K. Concentrations and composition profiles of parabens in currency bills and paper products including sanitary wipes. **Science of The Total Environment**, v. 475, p. 8–15, 2014.

LIND, P. M.; LIND, L. Circulating levels of bisphenol A and phthalates are related to carotid atherosclerosis in the elderly. **Atherosclerosis**, v. 218, n. 1, p. 207–213, 2011.

LINTELMANN, J. et al. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 75, n. 5, p. 631–681, 2003.

LONG, M.; GHISARI, M.; BONEFELD-JØRGENSEN, E. C. Effects of perfluoroalkyl acids on the function of the thyroid hormone and the aryl hydrocarbon receptor. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 11, p. 8045–8056, 2013.

MA, H. et al. Triclosan reduces the levels of global DNA methylation in HepG2 cells. **Chemosphere**, v. 90, n. 3, p. 1023–1029, 2013a.

MA, W.-L. et al. Urinary Concentrations of Parabens in Chinese Young Adults: Implications for Human Exposure. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 65, n. 3, p. 611–618, 2013b.

MANIKKAM, M. et al. Plastics Derived Endocrine Disruptors (BPA, DEHP and DBP) Induce Epigenetic Transgenerational Inheritance of Obesity, Reproductive Disease and Sperm Epimutations. **PLOS ONE**, v. 8, n. 1, p. e55387, 2013.

MANTELLI, F. et al. Effects of Sex Hormones on Ocular Surface Epithelia: Lessons Learned From Polycystic Ovary Syndrome. **Journal of Cellular Physiology**, v. 231, n. 5, p. 971–975, 2016.

MAQBOOL, F. et al. Review of endocrine disorders associated with environmental toxicants and possible involved mechanisms. **Life Sciences**, v. 145, p. 265–273, 2016.

MARCHESE, S.; SILVA, E. Disruption of 3D MCF-12A breast cell cultures by estrogens--an in vitro model for ER-mediated changes indicative of hormonal carcinogenesis. **PloS one**, v. 7, n. 10, p. e45767–e45767, 2012.

MARIN-CASTAÑO, M. E. et al. Regulation of Estrogen Receptors and MMP-2 Expression by Estrogens in Human Retinal Pigment Epithelium. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 44, n. 1, p. 50–59, 2003.

MARKEY, C. M. et al. In Utero Exposure to Bisphenol A Alters the Development and Tissue Organization of the Mouse Mammary Gland1. **Biology of Reproduction**, v. 65, n. 4, p. 1215–1223, 2001.

MARTÍNEZ-PAZ, P. et al. Endocrine-related genes are altered by antibacterial agent triclosan in *Chironomus riparius* aquatic larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 140, p. 185–190, 2017.

MASUO, Y. et al. Motor hyperactivity caused by a deficit in dopaminergic neurons

and the effects of endocrine disruptors: a study inspired by the physiological roles of PACAP in the brain. **Regulatory Peptides**, v. 123, n. 1–3, p. 225–234, 2004.

MASUYAMA, H. et al. Endocrine Disrupting Chemicals, Phthalic Acid and Nonylphenol, Activate Pregnane X Receptor-Mediated Transcription. **Molecular Endocrinology**, v. 14, n. 3, p. 421–428, 2000.

MATSON, J. L.; KOZLOWSKI, A. M. The increasing prevalence of autism spectrum disorders. **Research in Autism Spectrum Disorders**, v. 5, n. 1, p. 418–425, 2011.

MATSUSHIMA, A. et al. Structural evidence for endocrine disruptor bisphenol A binding to human nuclear receptor ERR γ . **Journal of Biochemistry**, v. 142, n. 4, p. 517–524, 2007.

MEEKER, J. D. et al. Semen quality and sperm DNA damage in relation to urinary bisphenol A among men from an infertility clinic. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 30, n. 4, p. 532–539, 2010.

MIIRCHAŁOWICZ, J. Bisphenol A - Sources, toxicity and biotransformation. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, n. 2, p. 738–758, 2014.

MIKAMO, E. et al. Endocrine disruptors induce cytochrome P450 by affecting transcriptional regulation via pregnane X receptor. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 193, n. 1, p. 66–72, 2003.

MILLS, L. J.; CHICHESTER, C. Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? **Science of The Total Environment**, v. 343, n. 1–3, p. 1–34, 2005.

MIMURA, J.; FUJII-KURIYAMA, Y. Functional role of AhR in the expression of toxic effects by TCDD. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1619, n. 3, p. 263–268, 2003.

MIODOVNIK, A. et al. Endocrine disruptors and childhood social impairment. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 2, p. 261–267, 2011.

MONNERET, C. What is an endocrine disruptor? **Comptes Rendus - Biologies**, v. 340, n. 9–10, p. 403–405, 2017.

MORIYAMA, K. et al. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 87, n. 11, p. 5185–5190, 2002.

MORSE, D. C. et al. Interference of Polychlorinated Biphenyls in Hepatic and Brain Thyroid Hormone Metabolism in Fetal and Neonatal Rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 122, n. 1, p. 27–33, 1993.

MOSS, S. E.; KLEIN, R.; KLEIN, B. E. K. Prevalence of and Risk Factors for Dry Eye Syndrome. **JAMA Ophthalmology**, v. 118, n. 9, p. 1264–1268, 2000.

MOSTAFA, S.; SEAMON, V.; AZZAROLO, A. M. Influence of sex hormones and genetic predisposition in Sjögren's syndrome: A new clue to the immunopathogenesis of dry eye disease. **Experimental Eye Research**, v. 96, n. 1, p. 88–97, 2012.

MURRAY, T. J. et al. Induction of mammary gland ductal hyperplasias and carcinoma in situ following fetal bisphenol A exposure. **Reproductive toxicology**

(Elmsford, N.Y.), v. 23, n. 3, p. 383–390, 2007.

NADAL, A. et al. Nongenomic actions of estrogens and xenoestrogens by binding at a plasma membrane receptor unrelated to estrogen receptor alpha and estrogen receptor beta. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 97, n. 21, p. 11603–11608, 2000.

NADAL, A. et al. The pancreatic β -cell as a target of estrogens and xenoestrogens: Implications for blood glucose homeostasis and diabetes. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 304, n. 1–2, p. 63–68, 2009.

NAGEL, S. C.; BROMFIELD, J. J. Bisphenol a: a model endocrine disrupting chemical with a new potential mechanism of action. **Endocrinology**, v. 154, n. 6, p. 1962–1964, 2013.

NAKAGAWA, Y.; TAYAMA, K. Estrogenic potency of benzophenone and its metabolites in juvenile female rats. **Archives of Toxicology**, v. 75, n. 2, p. 74–79, 2001.

NAKAMURA, S. et al. Involvement of oxidative stress on corneal epithelial alterations in a blink-suppressed dry eye. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 48, n. 4, p. 1552–1558, 2007.

NEWBOLD, R. R. et al. Uterine Adenocarcinoma in Mice Treated Neonatally with Genistein. **Cancer Research**, v. 61, n. 11, p. 4325 – 4328, 2001.

NEWBOLD, R. R.; BULLOCK, B. C.; MCLACHLAN, J. A. Uterine Adenocarcinoma in Mice following Developmental Treatment with Estrogens: A Model for Hormonal Carcinogenesis. **Cancer Research**, v. 50, n. 23, p. 7677 – 7681, 1990.

NEWBOLD, R. R.; PADILLA-BANKS, E.; JEFFERSON, W. N. Adverse Effects of the Model Environmental Estrogen Diethylstilbestrol Are Transmitted to Subsequent Generations. **Endocrinology**, v. 147, n. 6, p. s11–s17, 2006.

NICHOLS, K. K. The international workshop on meibomian gland dysfunction: Introduction. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 52, n. 4, p. 1917–1921, 2011.

NOGUERA-OVIEDO, K.; AGA, D. S. Lessons learned from more than two decades of research on emerging contaminants in the environment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 316, p. 242–251, 2016.

NOHYNEK, G. J. et al. Endocrine disruption: Fact or urban legend? **Toxicology Letters**, v. 223, n. 3, p. 295–305, 2013.

NOMURA, S. O.; HARNACK, L.; ROBIEN, K. Estimating bisphenol A exposure levels using a questionnaire targeting known sources of exposure. **Public Health Nutrition**, v. 19, n. 4, p. 593–606, 2016.

NOWAK, K. et al. Parabens and their effects on the endocrine system. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 474, n. December 2017, p. 238–251, 2018.

OISHI, S. Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. **Archives of Toxicology**, v. 76, n. 7, p. 423–429, 2002.

OKAMOTO, Y. et al. Combined activation of methyl paraben by light irradiation and esterase metabolism toward oxidative DNA damage. **Chemical Research in**

Toxicology, v. 21, n. 8, p. 1594–1599, 2008.

OKUBO, T. et al. ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER α and PR. **Food Chemical Toxicology**, v. 39, p. 1225–1232, 2001.

PANT, N. et al. Environmental and experimental exposure of phthalate esters: The toxicological consequence on human sperm. **Human and Experimental Toxicology**, v. 30, n. 6, p. 507–514, 2011.

PARK, C. J. et al. Butyl paraben-induced changes in DNA methylation in rat epididymal spermatozoa. **Andrologia**, v. 44, n. SUPPL.1, p. 187–193, 2012.

PATISAUL, H. B. et al. Accumulation and endocrine disrupting effects of the flame retardant mixture Firemaster® 550 in rats: an exploratory assessment. **Journal of biochemical and molecular toxicology**, v. 27, n. 2, p. 124–136, 2013.

PAUL, K. B. et al. Evidence for triclosan-induced activation of human and rodent xenobiotic nuclear receptors. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 7, p. 2049–2060, 2013.

PAULSEN, A. J. et al. Dry Eye in the Beaver Dam Offspring Study: Prevalence, Risk Factors, and Health-Related Quality of Life. **American Journal of Ophthalmology**, v. 157, n. 4, p. 799–806, 2014.

PITT, J. A. et al. Expression of AhR and ARNT mRNA in Cultured Human Endometrial Explants Exposed to TCDD. **Toxicological Sciences**, v. 62, n. 2, p. 289–298, 2001.

POLLOCK, T. et al. Butyl paraben and propyl paraben modulate bisphenol A and estradiol concentrations in female and male mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 325, p. 18–24, 2017.

PRASANTH, G. K.; DIVYA, L. M.; SADASIVAN, C. Bisphenol-A can bind to human glucocorticoid receptor as an agonist: An in silico study. **Journal of Applied Toxicology**, v. 30, n. 8, p. 769–774, 2010.

PRIGOL, A. Tradução e validação do índice da doença da superfície ocular para a língua portuguesa. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.75, n.1, p.24–28, 2012.

PTAK, A.; GREGORASZCZUK, E. L. Bisphenol A induces leptin receptor expression, creating more binding sites for leptin, and activates the JAK/Stat, MAPK/ERK and PI3K/Akt signalling pathways in human ovarian cancer cell. **Toxicology Letters**, v. 210, n. 3, p. 332–337, 2012.

RAVANAT, J. L. et al. Isotope dilution high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry assay for the measurement of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine in biological samples. **Journal of Chromatography B: Biomedical Applications**, v. 715, n. 2, p. 349–356, 1998.

RICHARDS, S. M. et al. Androgen regulation of gene expression in the mouse lacrimal gland. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 96, n. 5, p. 401–413, 2005.

ROCHA, B. A. et al. A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 154, p. 511–519,

2016.

ROCHA, B. A. et al. Urinary concentrations of 25 phthalate metabolites in Brazilian children and their association with oxidative DNA damage. **Science of the Total Environment**, v. 586, p. 152–162, 2017.

ROCHA, B. A. et al. Advanced data mining approaches in the assessment of urinary concentrations of bisphenols , chlorophenols , parabens and benzophenones in Brazilian children and their association to DNA damage. **Environment International**, v. 116, n. April, p. 269–277, 2018.

ROCHA, E. M. et al. Identification of androgen receptor protein and 5alpha-reductase mRNA in human ocular tissues. **The British journal of ophthalmology**, v. 84, n. 1, p. 76–84, 2000.

ROCHA, E. M. et al. The Aging Lacrimal Gland: Changes in Structure and Function. **The Ocular Surface**, v. 6, n. 4, p. 162–174, 2008.

ROCHESTER, J. R. et al. Potential Developmental and Reproductive Impacts of Triclocarban: A Scoping Review. **Journal of Toxicology**, v. 2017, p. 1–15, 2017.

ROLANDO, M.; REFOJO, M. F.; KENYON, K. R. Tear Water Evaporation and Eye Surface Diseases. **Ophthalmologica**, v. 190, n. 3, p. 147–149, 1985.

ROLANDO, M.; ZIERHUT, M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. **Survey of ophthalmology**, v. 45 Suppl 2, n. March, p. S203–S210, 2001.

RONALD, A.; PENNELL, C. E.; WHITEHOUSE, A. J. O. Prenatal Maternal Stress Associated with ADHD and Autistic Traits in early Childhood. **Frontiers in psychology**, v. 1, p. 223, 2011.

ROTHSCHILD, T. C. et al. Transplacental Effects of Diethylstilbestrol on Mammary Development and Tumorigenesis in Female ACI Rats. **Cancer Research**, v. 47, n. 16, p. 4508 – 4516, 1987.

RUDEL, R. A. et al. Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. **Environmental Science and Technology**, v. 37, n. 20, p. 4543–4553, 2003.

SALGADO-FREIRÍA, R.; LÓPEZ-DOVAL, S.; LAFUENTE, A. Perfluorooctane sulfonate (PFOS) can alter the hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) axis activity by modifying CRF1 and glucocorticoid receptors. **Toxicology Letters**, v. 295, p. 1–9, 2018.

SAPKOTA, A.; HEIDLER, J.; HALDEN, R. U. Detection of triclocarban and two co-contaminating chlorocarbanilides in US aquatic environments using isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Environmental Research**, v. 103, n. 1, p. 21–29, 2007.

SARGIS, R. M. et al. Environmental endocrine disruptors promote adipogenesis in the 3T3-L1 cell line through glucocorticoid receptor activation. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 18, n. 7, p. 1283–1288, 2010.

SATO, E. H.; SULLIVAN, D. A. Comparative Influence of Steroid-Hormones and Immunosuppressive Agents on Autoimmune Expression in Lacrimal Glands of a

Female Mouse Model of Sjogrens-Syndrome. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 35, n. 5, p. 2632–2642, 1994.

SATOH, K. et al. Androgenic and Antiandrogenic Effects of Alkylphenols and Parabens Assessed Using the Reporter Gene Assay with Stably Transfected CHO-K1 Cells (AR-EcoScreen System). **Journal of Health Science**, v. 51, n. 5, p. 557–568, 2005.

SCHAEDLICH, K. et al. DEHP deregulates adipokine levels and impairs fatty acid storage in human SGBS-adipocytes. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 3447, 2018.

SCHAUMBERG, D. A. et al. Prevalence of dry eye syndrome among US women. **American journal of ophthalmology**, v. 136, n. 2, p. 318–26, 2003.

SCHENCK, K. et al. Removal of estrogens and estrogenicity through drinking water treatment. **Journal of Water and Health**, v. 10, n. 1, p. 43–55, 2012.

SCHIFFMAN, R. et al. Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index. **Clinical Sciences**, v. 118, n. 5, p. 615–621, 2000.

SCHIRRA, F. et al. Androgen regulation of lipogenic pathways in the mouse meibomian gland. **Experimental Eye Research**, v. 83, n. 2, p. 291–296, 2006.

SCHLECHT, C. et al. Effects of estradiol, benzophenone-2 and benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. **Toxicology**, v. 205, n. 1- 2 SPEC. ISS., p. 123–130, 2004.

SCHLUMPF, M. et al. Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: Correlation of UV filters with use of cosmetics. **Chemosphere**, v. 81, n. 10, p. 1171–1183, 2010.

SCHRÖDER, A. et al. In vitro effects of sex hormones in human meibomian gland epithelial cells. **Experimental Eye Research**, v. 151, p. 190–202, 2016.

SHANKAR, A.; TEPPALA, S.; SABANAYAGAM, C. Bisphenol A and Peripheral Arterial Disease: Results from the NHANES. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 9, p. 1297–1300, 2012.

SHARMA, A.; HINDMAN, H. B. Aging: A predisposition to dry eyes. **Journal of Ophthalmology**, v. 2014, 2014.

SHOHAM, A. et al. Oxidative stress in diseases of the human cornea. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 45, n. 8, p. 1047–1055, 2008.

SIFAKIS, S. et al. Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 51, p. 56–70, 2017.

SKINNER, M. K. Endocrine disruptor induction of epigenetic transgenerational inheritance of disease. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 398, n. 1–2, p. 4–12, 2014.

SKINNER, M. K. et al. Gene bionetworks involved in the epigenetic transgenerational inheritance of altered mate preference: environmental epigenetics and evolutionary biology. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 377, 2014.

- SOUTER, I. et al. The association of bisphenol-A urinary concentrations with antral follicle counts and other measures of ovarian reserve in women undergoing infertility treatments. **Reproductive Toxicology**, v. 42, p. 224–231, 2013.
- STAPLETON, F. et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. **The Ocular Surface**, v. 15, n. 3, p. 334–365, 2017.
- STERN, M. E. et al. The Pathology of Dry Eye: The Interaction Between the Ocular Surface and Lacrimal Glands. **Cornea**, v. 17, n. 6, 1998.
- STERN, M. E. et al. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. **Experimental Eye Research**, v. 78, n. 3, p. 409–416, 2004.
- SUI, Y. et al. Bisphenol A and its analogues activate human pregnane X receptor. **Environmental health perspectives**, v. 120, n. 3, p. 399–405, 2012.
- SUI, Y. et al. Perinatal Bisphenol A Exposure Increases Atherosclerosis in Adult Male PXR-Humanized Mice. **Endocrinology**, v. 159, n. 4, p. 1595–1608, 2018.
- SULLIVAN, D. A. et al. Influence of gender, sex steroid hormones, and the hypothalamic-pituitary axis on the structure and function of the lacrimal gland. **Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2**, p. 11–42, 1998.
- SULLIVAN, D. A. et al. Androgen Influence on the Meibomian Gland. v. 41, n. 12, p. 3732–3742, 2018.
- SULLIVAN, D. A. et al. Androgen deficiency, Meibomian gland dysfunction, and evaporative dry eye. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 966, p. 211–22, 2002.
- SULLIVAN, D. A. et al. Do sex steroids exert sex-specific and/or opposite effects on gene expression in lacrimal and meibomian glands? **Molecular vision**, v. 15, n. June, p. 1553–1572, 2009.
- SUN, Q. et al. Association of Urinary Concentrations of Bisphenol A and Phthalate Metabolites with Risk of Type 2 Diabetes: A Prospective Investigation in the Nurses' Health Study (NHS) and NHSII Cohorts. **Environmental Health Perspectives**, v. 122, n. 6, p. 616–623, 2014.
- SUZUKI, T. et al. Do estrogen and progesterone play a role in the dry eye of Sjögren's syndrome? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 966, p. 223–225, 2002.
- SUZUKI, T. et al. Estrogen and Progesterone Control of Gene Expression in the Mouse Meibomian Gland. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 49, n. 5, p. 1797, 2008.
- TARNOW, P. et al. Effects of triclocarban on the transcription of estrogen, androgen and aryl hydrocarbon receptor responsive genes in human breast cancer cells. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 5, p. 1467–1475, 2013.
- TAXVIG, C. et al. Differential effects of environmental chemicals and food contaminants on adipogenesis, biomarker release and PPAR γ activation. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 361, n. 1–2, p. 106–115, 2012.

THAKUR, A.; WILLCOX, M. D. P.; STAPLETON, F. The Proinflammatory Cytokines and Arachidonic Acid Metabolites in Human Overnight Tears: Homeostatic Mechanisms. **Journal of Clinical Immunology**, v. 18, n. 1, p. 61–70, 1998.

THOMAS, P.; DONG, J. Binding and activation of the seven-transmembrane estrogen receptor GPR30 by environmental estrogens: A potential novel mechanism of endocrine disruption. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 102, n. 1- 5 SPEC. ISS., p. 175–179, 2006.

TIMMS, B. G. et al. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 19, p. 7014–7019, 2005.

TOPPARI, J. et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. **Environmental health perspectives**, v. 104 Suppl, n. Suppl 4, p. 741–803, 1996.

TRASANDE, L. et al. Burden of disease and costs of exposure to endocrine disrupting chemicals in the European Union: an updated analysis. **Andrology**, v. 4, n. 4, p. 565–572, 2016.

TRUONG, S. et al. Sex hormones and the dry eye. **Clinical and Experimental Optometry**, v. 97, n. 4, p. 324–336, 2014.

TSUTSUMI, O. Assessment of human contamination of estrogenic endocrine-disrupting chemicals and their risk for human reproduction. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 93, n. 2–5, p. 325–330, 2005.

UCHINO, M. et al. Prevalence and risk factors of dry eye disease in Japan: Koumi study. **Ophthalmology**, v. 118, n. 12, p. 2361–2367, 2011.

UCHINO, Y. et al. A New Mouse Model of Dry Eye Disease. **Cornea**, v. 31, n. 11, p. S63–S67, 2012a.

UCHINO, Y. et al. Oxidative stress induced inflammation initiates functional decline of tear production. **PLoS one**, v. 7, n. 10, p. e45805, 2012b.

UM, S. B. et al. Spatial epidemiology of dry eye disease: Findings from South Korea. **International Journal of Health Geographics**, v. 13, n. 1, p. 1–9, 2014.

VAN BIJSTERVELD, O. P. Diagnostic Tests in the Sicca Syndrome. **Archives of Ophthalmology**, v. 82, n. 1, p. 10–14, 1969.

VAN DEN BERG, M. et al. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. **Environmental health perspectives**, v. 106, n. 12, p. 775–792, 1998.

VANDENBERG, L. N. et al. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 8, p. 1055–1070, 2010.

VANDENBERG, L. N. et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. **Endocrine Reviews**, v. 33, n. 3, p. 378–455, 2012.

VELDHOEN, N. et al. The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development.

Aquatic Toxicology, v. 80, n. 3, p. 217–227, 2006.

VERSURA, P.; GIANNACCARE, G.; CAMPOS, E. C. Sex-Steroid Imbalance in Females and Dry Eye. **Current Eye Research**, v. 40, n. 2, p. 162–175, 2015.

VIÑAS, R.; JENG, Y.-J.; WATSON, C. S. Non-genomic effects of xenoestrogen mixtures. **International journal of environmental research and public health**, v. 9, n. 8, p. 2694–2714, 2012.

VINGGAARD, A. M.; HNIDA, C.; LARSEN, J. C. Environmental polycyclic aromatic hydrocarbons affect androgen receptor activation in vitro. **Toxicology**, v. 145, n. 2–3, p. 173–183, 2000.

VO, T. T. B. et al. Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. **Reproductive Toxicology**, v. 29, n. 3, p. 306–316, 2010.

VOM SAAL, F. S. et al. The estrogenic endocrine disrupting chemical bisphenol A (BPA) and obesity. **Molecular and cellular endocrinology**, v. 354, n. 1–2, p. 74–84, 2012.

WAKAMATSU, T. H. et al. Evaluation of lipid oxidative stress status in Sjögren syndrome patients. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 54, n. 1, p. 201–210, 2013.

WAKAMATSU, T. H.; DOGRU, M.; TSUBOTA, K. Tearful relations: oxidative stress, inflammation and eye diseases. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 71, n. 6, p. 72–79, 2008.

WANG, L.-Q. Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone. **Journal of Chromatography B**, v. 777, n. 1–2, p. 289–309, 2002.

WANG, L.; KANNAN, K. Alkyl protocatechuates as novel urinary biomarkers of exposure to p-hydroxybenzoic acid esters (parabens). **Environment International**, v. 59, p. 27–32, 2013a.

WANG, L.; KANNAN, K. Characteristic profiles of benzonphenone-3 and its derivatives in urine of children and adults from the United States and China. **Environmental Science and Technology**, v. 47, n. 21, p. 12532–12538, 2013b.

WANG, L.; KANNAN, K. Alkyl protocatechuates as novel urinary biomarkers of exposure to p-hydroxybenzoic acid esters (parabens). **Environment International**, v. 59, p. 27–32, 2013c.

WANG, T. et al. Urinary bisphenol a concentration and thyroid function in Chinese adults. **Epidemiology**, v. 24, n. 2, p. 295–302, 2013.

WANG, W.; HAFNER, K. S.; FLAWS, J. A. In utero bisphenol A exposure disrupts germ cell nest breakdown and reduces fertility with age in the mouse. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 276, n. 2, p. 157–164, 15 abr. 2014.

WATANABE, Y. et al. Comparative study on transcriptional activity of 17 parabens mediated by estrogen receptor α and β and androgen receptor. **Food and Chemical Toxicology**, v. 57, p. 227–234, 2013.

WENG, T.-I. et al. Effects of Gender on the Association of Urinary Phthalate Metabolites with Thyroid Hormones in Children: A Prospective Cohort Study in

Taiwan. **International journal of environmental research and public health**, v. 14, n. 2, p. 123, 29 jan. 2017.

WETHERILL, Y. B. et al. In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. **Reproductive Toxicology**, v. 24, n. 2, p. 178–198, 2007.

WICKHAM, L. A. et al. Identification of androgen, estrogen and progesterone receptor mRNAs in the eye. **Acta ophthalmologica Scandinavica**, v. 78, n. 2, p. 146–153, 2000.

WITORSCH, R. J.; THOMAS, J. A. Personal care products and endocrine disruption: A critical review of the literature. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 40, n. sup3, p. 1–30, 2010.

XI, Y.; LI, D.; SAN, W. Exposure to the endocrine disruptor nonylphenol alters structure and function of thyroid gland in rats. **Regulatory Peptides**, v. 185, p. 52–56, 2013.

XU, X. BIN et al. Bisphenol a regulates the estrogen receptor alpha signaling in developing hippocampus of male rats through estrogen receptor. **Hippocampus**, v. 24, n. 12, p. 1570–1580, 2014.

XU, C. et al. Ovotoxicity and PPAR-mediated aromatase downregulation in female Sprague–Dawley rats following combined oral exposure to benzo[a]pyrene and di-(2-ethylhexyl) phthalate. **Toxicology Letters**, v. 199, n. 3, p. 323–332, 2010.

XU, L.-C. et al. Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol in vitro. **Toxicology**, v. 216, n. 2–3, p. 197–203, 2005.

XUE, J. et al. Urinary levels of endocrine-disrupting chemicals, including bisphenols, bisphenol A diglycidyl ethers, benzophenones, parabens, and triclosan in obese and non-obese Indian children. **Environmental Research**, v. 137, p. 120–128, 2015.

YAMAMOTO, H. et al. Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: Individual and additive approach. **Science of the Total Environment**, v. 410–411, p. 102–111, 2011.

YAN, Z. et al. Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon, adiposity, peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ methylation in offspring, grand-offspring mice. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, 2014.

YAOI, T. et al. Genome-wide analysis of epigenomic alterations in fetal mouse forebrain after exposure to low doses of bisphenol A. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 376, n. 3, p. 563–567, 21 nov. 2008.

YE, X. et al. Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, n. 12, p. 1843–1846, 2006.

YE, X. et al. Urinary Concentrations of Bisphenol A and Three Other Bisphenols in Convenience Samples of U.S. Adults during 2000-2014. **Environmental Science and Technology**, v. 49, n. 19, p. 11834–11839, 2015.

YE, X. et al. Urinary Concentrations of the Antibacterial Agent Triclocarban in United States Residents: 2013-2014 National Health and Nutrition Examination Survey. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 24, p. 13548–13554, 2016.

YIN, J.; WEI, L.; SHI, Y. Chinese population exposure to triclosan and triclocarban as measured via human urine and nails. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 38, n. 5, p. 1125–1135, 2016.

YUEH, M. F. et al. Triclocarban mediates induction of xenobiotic metabolism through activation of the constitutive androstane receptor and the estrogen receptor alpha. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, 2012.

ZHANG, T. et al. Benzophenone-type UV filters in urine and blood from children, adults, and pregnant women in China: Partitioning between blood and urine as well as maternal and fetal cord blood. **Science of the Total Environment**, v. 461–462, p. 49–55, 2013.

ZHENG, Q. et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes initiate inflammation in hyperosmolarity stressed human corneal epithelial cells and environment-induced dry eye patients. **Experimental Eye Research**, v. 134, p. 133–140, 2015.

ZHUANG, S. et al. Distinct mechanisms of endocrine disruption of DDT-related pesticides toward estrogen receptor α and estrogen-related receptor γ . **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 31, n. 11, p. 2597–2605, 2012.

ZIMMERS, S. M. et al. Determination of free Bisphenol A (BPA) concentrations in breast milk of U.S. women using a sensitive LC/MS/MS method. **Chemosphere**, v. 104, p. 237–243, 2014.

ZIV-GAL, A. et al. Bisphenol A inhibits cultured mouse ovarian follicle growth partially via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway. **Reproductive Toxicology**, v. 42, p. 58–67, 2013.

ZOELLER, R. T.; BANSAL, R.; PARRIS, C. Bisphenol-A, an Environmental Contaminant that Acts as a Thyroid Hormone Receptor Antagonist in Vitro, Increases Serum Thyroxine, and Alters RC3/Neurogranin Expression in the Developing Rat Brain. **Endocrinology**, v. 146, n. 2, p. 607–612, 2005.

ZOTA, A. R. et al. Polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated polybrominated diphenyl ethers, and measures of thyroid function in second trimester pregnant women in California. **Environmental science & technology**, v. 45, n. 18, p. 7896–7905, 2011.

APÊNDICE

QUESTIONÁRIO SOBRE HÁBITOS DOS PACIENTES

1. Dados Gerais:

Nome:

Idade (anos): Sexo: F () M ()

Profissão (se aposentado relatar profissão anterior):

Profissão da mãe:

Moradia atual: rural () urbana ()

Moradia na infância: rural () urbana ()

2. Uso de medicamentos, cosméticos, produtos de higiene pessoal e outros:

2.1 Uso de anticoncepcional ou repositores hormonal: S () N ()

2.2 Usos de filtro solar:

a. Nunca ou <uma vez / semana ()

b. 1-3 vezes / semana ()

c. Várias vezes / semana ()

d. Todos os dias ()

2.3 Uso de cosméticos na face:

a. Nunca ou <uma vez / semana ()

b. 1-3 vezes / semana ()

c. Várias vezes / semana ()

d. Todos os dias ()

2.4 Uso de maquiagem nos olhos:

a. Nunca ou <uma vez / semana ()

b. 1-3 vezes / semana ()

c. Várias vezes / semana ()

d. Todos os dias ()

2.5 Manuseio de papel térmico (ex: cupom fiscal):

a. Nunca ou <uma vez / semana ()

b. 1-3 vezes / semana ()

c. Várias vezes / semana ()

d. Todos os dias ()

Continua...

3.Hábitos alimentares

3.1 Fonte de água para beber:

- a. Mineral em garrafas plásticas ()
- b. Torneira ()
- c. Filtros ()
- d. Galões plásticos ().

3.2 Consumo de comidas enlatadas :

- a. Nunca ou <uma vez / semana ()
- b. 1-3 vezes / semana ()
- c. Várias vezes / semana ()
- d. Todos os dias ().

3.3 Uso de micro-ondas para aquecer alimentos em vasilhas plásticas (frisar):

- a. Nunca ou <uma vez / semana ()
- b. Vezes / semana ()
- c. Várias vezes / semana ()
- d. Todos os dias ().

3.4 Consumo de sucos ou refrigerantes em embalagens plásticas:

- a. Nunca ou <uma vez / semana ()
- b. 1-3 vezes / semana ()
- c. Várias vezes / semana ()
- d. Todos os dias ().

4.Fatores associados:

() diabetes () menopausa () doença reumática () tabagismo ()
quimioterapia/radioterapia () uso de lente de contato () cirurgia ocular () uso de
computador por mais de 6 horas/dia () uso de antidepressivo () uso de antialérgicos.

ANEXOS

1- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA
DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



Ribeirão Preto, 09 de janeiro de 2017.

Ofício nº 98/2017
CEP/MGV

PROCESSO HCRP nº 14154/2016

Prezados Senhores,

O trabalho intitulado **“BISFENOL A E OLHO SECO: PESQUISA DE UMA POSSÍVEL CORRELAÇÃO” – Projeto de Pesquisa Versão 2 de 01/12/2016**, foi analisado “AD REFERENDUM” pelo Comitê de Ética em Pesquisa e enquadrado na categoria: **APROVADO**, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Versão 2 de 01/12/2016.

De acordo com Carta Circular nº 003/2011/CONEP/CNS, datada de 21/03/2011, o sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última do referido Termo; o pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

Este Comitê segue integralmente a Conferência Internacional de Harmonização de Boas Práticas Clínicas (IGH-GCP), bem como a Resolução nº 466/2012 CNS/MS.

Lembramos que devem ser apresentados a este CEP, o Relatório Parcial e o Relatório Final da pesquisa.

Atenciosamente.

DRª MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do HCRP e da FMRP-USP

Ilustríssimos Senhores

REGINA CÉLIA NUCCI PONTELLI

PROF. DR. EDUARDO MELANI ROCHA (Orientador)

Depto. de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Campus Universitário – Monte Alegre
14048-900 Ribeirão Preto SP

Comitê de Ética em Pesquisa do HCRP e FMRP-USP
FWA-00002733; IRB-00002186 e
Registro Plataforma Brasil / CONEP nº 5440
(016) 3602-2228
cep@hcrp.usp.br

www.hcrp.usp.br



2 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA -EMENDA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Desreguladores endócrinos e olho seco: pesquisa de uma possível correlação.

Pesquisador: REGINA CELIA NUCCI

PONTELLI Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 61374116.7.0000.5440

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.364.651

Apresentação do Projeto:

Trata-se de EMENDA ao projeto de pesquisa conforme carta datada de 27 de maio de 2019.

Objetivo da Pesquisa:

Identificar uma possível relação entre a síndrome do olho seco e a exposição à BPA e demais desreguladores endócrinos.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não modificado com a emenda.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da emenda:

A- Solicito Emenda para:

1- Título do projeto que passará de: "Bisfenol A e olho seco: pesquisa de uma possível correlação" para "Desreguladores Endócrinos e olho seco: pesquisa de uma possível correlação".

2- Acréscimo de compostos analisados na urina dos pacientes pelo mesmo método descrito na versão aprovada anteriormente por esse comitê.

B- Solicito dispensa de ratificação e apresentação de novo TCLE.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Documentos apresentados na emenda:

- Relatorioparcial.pdf



- ProjetoV3.pdf

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O CEP analisou e aprovou a EMENDA bem como o Projeto de pesquisa Versão 3-23/05/2019 com a alteração do título da pesquisa para "Desreguladores Endócrinos e olho seco: pesquisa de uma possível correlação." O CEP tomou ciência do Relatório parcial.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_136581_7_E1.pdf	27/05/2019 15:31:54		Aceito
Outros	Relatorioparcial.pdf	27/05/2019 15:29:28	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Outros	EMENDA.pdf	27/05/2019 15:27:36	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoV3.pdf	27/05/2019 15:19:51	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE2.pdf	08/12/2016 10:43:33	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE1.pdf	08/12/2016 10:42:59	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	08/12/2016 08:44:30	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Outros	Questionarios.docx	26/10/2016 09:03:42	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Cronograma	Projeto_cronograma.docx	26/10/2016 08:53:20	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Outros	Carta.pdf	26/10/2016 08:49:02	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Outros	SAME.pdf	26/10/2016 08:47:49	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito
Folha de Rosto	Rosto.pdf	26/10/2016 08:45:51	REGINA CELIA NUCCI PONTELLI	Aceito

Continuação do Parecer: 3.364.651

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIBEIRAO PRETO, 03 de Junho de 2019

Assinado por:
MARCIA GUIMARÃES VILLANOVA
(Coordenador(a))