

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

WAGNER SANTOS LUCENA

**O FÁRMACO 17 α -ETINILESTRADIOL: SEUS POSSÍVEIS EFEITOS À SAÚDE
HUMANA E ANIMAL POR EXPOSIÇÕES AMBIENTAIS**

RIO DE JANEIRO

2013

WAGNER SANTOS LUCENA

**O FÁRMACO 17 α -ETINILESTRADIOL: SEUS POSSÍVEIS EFEITOS À
SAÚDE HUMANA E ANIMAL POR EXPOSIÇÕES AMBIENTAIS**

**Monografia apresentado ao
curso de Pós Graduação *Lato Sensu*
como requisito para obtenção do
título de Especialista em Tecnologias
Industriais Farmacêuticas**

ORIENTADOR: Prof. Paulo Sérgio Bergo de Lacerda, Dsc

Rio de Janeiro

2013

Ficha catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

L935f

Lucena, Wagner Santos

O fármaco 17 α -Ethinilestradiol: seus possíveis efeitos à saúde humana e animal por exposições ambientais. / Wagner Santos Lucena. – Rio de Janeiro, 2013.

xiv, 48 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dsc. Paulo Sérgio Bergo de Lacerda

TCC (Especialização) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, 2013.

Bibliografia: f. 33-46

1. 17 α -Ethinilestradiol. 2. Efeitos à saúde humana e dos animais. 3. Exposição ambiental a interferentes endócrinos. I. Título.

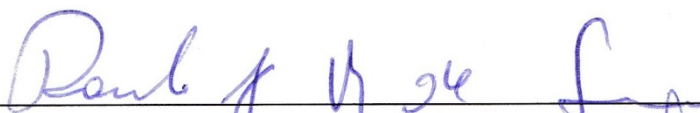
CDD 615.1

WAGNER SANTOS LUCENA

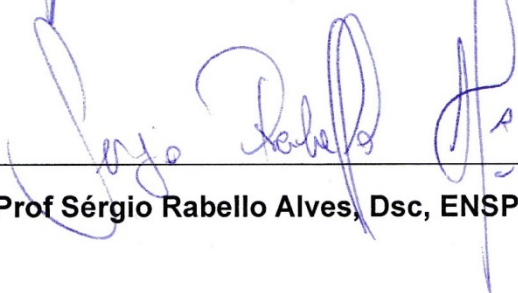
Monografia apresentada junto ao Curso de Pós-Graduação *Lato Sensu* do Instituto de Tecnologia de Fármacos – Farmanguinhos/FIOCRUZ, como requisito final à obtenção do título de Especialista em Tecnologias Industriais Farmacêuticas

Orientador: Paulo Sérgio Bergo de Lacerda, Dsc

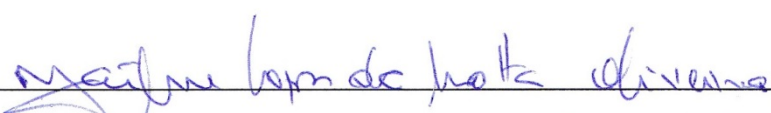
Banca Examinadora



Prof. Paulo Sérgio Bergo de Lacerda, Dsc, Farmanguinhos/FIOCRUZ



Prof Sérgio Rabello Alves, Dsc, ENSP-FIOCRUZ



Prof Jaime Lopes da Mota Oliveira, Dsc, ENSP-FIOCRUZ

AGRADECIMENTOS

À minha família, obrigado pela compreensão, respeito e paciência.

Aos meus amigos, pelo apoio e companheirismo.

Aos professores que tive, obrigado por me transmitirem seus conhecimentos e permitiram chegar até este momento.

RESUMO

Este trabalho contextualiza o fármaco 17 α -etinilestradiol como um interferente endócrino de grande potencial estrogênico, ambientalmente persistente, biodisponível por via oral ao ser humano, e de contínua entrada nos compartimentos ambientais (principalmente nos corpos hídricos).

Efeitos na saúde humana e animal por exposições ambientais, técnicas de identificação e caracterização laboratorial, e as concentrações encontradas dessa substância em diversas matrizes aquáticas do mundo são explicitados, utilizando como ferramenta metodológica a revisão da literatura científica nacional e internacional sobre o tema

Este trabalho mostra estudos científicos que relatam a presença do 17 α -etinilestradiol em concentrações ambientais baixas (em torno de nanogramas por litro), mas que poderiam promover, na biota exposta, efeitos como indução de feminização de espécies machos, alteração da proporção entre os sexos da prole, infertilidade e redução da fecundidade.

Estas concentrações relatadas não seriam capazes, isoladamente, de gerar efeitos na espécie humana, segundo pesquisas de avaliação de risco a saúde. Porém, discute-se a contribuição desse fármaco em uma exposição crônica e múltipla a diversos interferentes endócrinos estrogênicos presentes na água e alimentos.

Os aspectos regulatórios acerca do estabelecimento de concentrações do 17 α -etinilestradiol em que não se observariam efeitos ambientais e possíveis soluções para reduzir a exposição ambiental a interferentes endócrinos também são abordados no trabalho .

Palavras-chave: 17 α -etinilestradiol , efeitos à saúde humana e dos animais, exposição ambiental a interferentes endócrino

ABSTRACT

This study contextualizes the drug 17 α -ethinylestradiol as a great potential estrogenic endocrine disruptor, environmentally persistent, orally bioavailable to humans, which has continuous input in the environmental compartments (mainly in aquatic matrices).

Effects on human and animal health by environmental exposures, identification and characterization laboratory techniques, and found concentrations of this substance in aquatic matrices of the world are showed, using as a methodological tool a review of national and international scientific literature on the subject.

This study shows that scientific researches reported the presence of 17 α -ethinylestradiol at low environmental concentrations (around nanograms per liter), but that could promote, in exposed biota, effects such as induction of feminization of male species, changing the proportion between sexes of offspring, infertility and fecundity reduction.

These concentrations reported would not be able, alone, to generate effects in humans, according to surveys of health risk assessment. However, there is a discussion regarding the contribution of this drug in a chronic exposure to multiple and diverse estrogenic endocrine disruptors present in water and food.

The regulatory aspects regarding the establishment of concentrations of 17 α -ethinylestradiol in which not observe environmental effects and possible solutions to reduce environmental exposure to endocrine disruptors are also discussed at this study

Keywords: 17 α -ethinylestradiol, human and animals health effects, environmental exposure to endocrine disruptors

LISTA DE ILUSTRAÇÕES OU FIGURAS

FIGURA 1 – Estrutura Química do 17 β -estradiol (a) e do 17 α -etinilestradiol (b).....	16
--	----

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Mecanismos de ação de Interferentes endócrinos	8 e 9
QUADRO 2 - Classificação Toxicológica das Substâncias segundo seu DL ₅₀ 10	
QUADRO 3 - Efeitos nos ecossistemas provocados por alguns interferentes endócrinos	13 e 14
QUADRO 4 - Possíveis Efeitos do 17 α -etinilestradiol na saúde humana no uso em terapia de reposição hormonal ou como contraceptivo.....	20
Quadro 5 – Resultados obtidos da busca bibliográfica na base ISI Web of Knowledge utilizando diferentes descritores	26
Quadro 6 – Ano em que foram publicados os artigos científicos encontrados	27
QUADRO 7 - Concentrações encontradas de 17 α -etinilestradiol em diferentes matrizes e locais no Brasil	29
QUADRO 8 - Concentrações relatadas de 17 α -Etinilestradiol em matrizes aquáticas no mundo	29 e 30
QUADRO 9 - Principais Efeitos do 17 α -etinilestradiol em diferentes espécies animais.....	31 e 32
QUADRO 10 - Parâmetros Ecotoxicológicos exigidos para Lançamento de Efluentes	51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA – Agencia Nacional de Vigilancia Sanitária

BPC's – Bifenilas policloradas

CECR – Concentração do Efluente no corpo hídrico receptor

CENO – Concentração de Efeito não observado

CE₅₀ - Concentração da substância que gera 50% de uma atividade máxima em organismos expostos ou que promove o aparecimento de um efeito em metade da população de organismos estudados.

CONAMA – Conselho Nacional de Meio Ambiente

CSTEE - *Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment*

DDT – Dicloro difenil tricloroetano

DES – Dietilestilbestrol

DL₅₀ - Dose necessária de uma substância para produzir a morte de 50% dos organismos expostos

EDC's – Endocrine Disruptors Compounds

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

ETE – estação de tratamento de efluentes e/ou esgotos

ETA – Estação de tratamento de água para consumo humano

FSH – *Follicle Stimulating Hormone*

FUNASA – Fundação Nacional da Saúde

GC-MS – *Gas chromatography with mass spectrometer detector*

HPA's – Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

IARC – *International Agency for Research on Cancer*

INEA-RJ – Instituto do Meio Ambiente do Estado do Rio de Janeiro

LC-MS – *Liquid Chromatography with mass spectrometer detector*

LH – *Luteinizing Hormone*

LOAEL – *Lowest Observed Adverse Effect Level*

MMA – Ministério do Meio Ambiente do Brasil

NOAEL – *No Observed Adverse Effect Level*

PNEC - *Predicted no effect concentration*

TBT – Tributilestanho

TPT - trifenilestanho

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SVS-MS – Sistema de Vigilância Sanitária, Ministério da Saúde do Brasil

USEPA – *United States Environmental Protection Agency*

VTG – vitelogenina

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	1
INTRODUÇÃO	4
1.1 - O sistema endócrino e os seus interferentes	4
1.2 - Mecanismo de ação de interferentes endócrinos	8
1.3 - Toxicidade das substâncias e a avaliação do risco à saúde.....	9
1.4 - Efeitos relatados aos interferentes endócrinos	13
1.5 - Dados sobre o interferente endócrino de escolha: 17 α -etinilestradiol	16
1.5.1 – Estrutura Química, Características Físico-Químicas e classificação Toxicológica	16
1.5.2 - Mecanismo de Ação do 17 α -etinilestradiol	17
1.5.3 - Dados de consumo mundial do 17 α -etinilestradiol	18
1.5.4 - Efeitos Deletérios a saúde relacionados ao uso humano em Terapia de reposição Hormonal e como contraceptivo	19
1.5.5 - Principais metodologias laboratoriais para caracterização, identificação e quantificação do etinilestradiol	21
2 – OBJETIVOS	25
2.1 - Objetivos gerais	25
2.1 - Objetivos específicos.....	26
3 - METODOLOGIA	26
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	26

5 - CONCLUSÃO.....	34
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
7 – ANEXO: ASPECTOS REGULATÓRIOS NO BRASIL	49

APRESENTAÇÃO

O avanço do conhecimento no campo da Saúde e o uso intensivo de tecnologias na busca contínua pelo combate às enfermidades e pelo bem estar, tem impulsionado a espécie humana a transformar os recursos naturais e o ambiente onde vive.

Neste cenário, dentre o vasto arsenal de tecnologias disponíveis, é possível destacar o uso dos medicamentos alopáticos, que são considerados o principal produto final tecnológico-científico comercializável do campo da Saúde. A intensificação do seu processo de consumo tem sido cada vez maior no mundo (WHO, 2004).

A velocidade e a magnitude com que este processo se realiza tem sido objeto de preocupação de diferentes atores sociais, sobretudo a imprensa, os movimentos sociais e pesquisadores do campo da Saúde, em virtude da possibilidade desse uso poder trazer consequências indesejadas para:

- O indivíduo ao qual se administra o medicamento: fruto de prescrição ou posologia equivocada e de efeitos adversos intrínsecos à formulação (fármacos + excipientes)
- Para a saúde dos ecossistemas: afetados pela entrada contínua de fármacos inalterados e seus subprodutos biologicamente ainda ativos em oceanos, rios e lagoas, lixivia do solo pelo uso de fármacos na agricultura/pecuária ou na disposição inadequada em aterros ilegais.

Há também um possível impacto sobre os ecossistemas por via de emissões de gases e particulados na produção industrial farmacêutica/farmoquímica e em indústrias de incineração de fármacos/excipientes.

- Para saúde coletiva: pela contaminação de águas subterrâneas e águas superficiais, que muitas vezes são usados como mananciais para obtenção de

água de consumo humano. Quando essas águas são utilizadas na agricultura, podem também contaminar os alimentos. Há de se ressaltar que o consumo de peixes e crustáceos extraídos de matrizes contaminadas também podem representar um perigo para a saúde humana.

Os fármacos, insumos biologicamente ativos sobre as células e presentes na formulação dos medicamentos, são em sua maioria considerados substâncias ambientalmente persistentes e passíveis de bioacumulação. Isso se deve a sua forte atividade biológica, baixa biodegradabilidade e grande caráter lipofílico dessas substâncias (Christensen, 1998), além de sua entrada contínua no ambiente aquático através, principalmente, de efluentes e águas residuais. Além disso, muitos deles não são completamente removidos pelos sistemas convencionais de tratamento de esgotos e efluentes (Ternes *et al.*, 1999) .

Quando se observa esse panorama, restringindo a atenção aos fármacos que apresentam características de interferente ou desregulador do sistema endócrino, essa preocupação adquire uma grande relevância, podendo gerar riscos ambientais e à saúde humana.

Esse receio se justifica devido ao fato de, mesmo presente em concentrações subterapêuticas à espécie humana nas águas superficiais ou em águas tratadas por estações de tratamento de esgotos e efluentes, é relatado que a contaminação ambiental provocada por interferentes endócrinos estrogênicos, como o 17 α -etinilestradiol, em uma exposição crônica e múltipla de diferentes espécies químicas, produziram ações deletérias sobre os organismos.

Essas ações impactariam principalmente no sistema reprodutivo e no sistema nervoso (Singleton *et al.*, 2003), e no aparecimento de diferentes tipos de cânceres, sobretudo os relacionados ao sistema reprodutivo (Fernandez *et al.*, 2010 ; Davis *et al.*, 1993 ; Wetherill *et al.*, 2005).

Dessa forma, o escopo deste trabalho se restringe ao fármaco interferente endócrino 17 α -etinilestradiol devido a sua considerável

biodisponibilidade por via oral e por ser considerado um dos principais e mais potentes estrogênios sintéticos de grande produção e consumo no mundo.

O principal objetivo deste trabalho é elucidar os efeitos na saúde humana e dos animais pela exposição por fontes ambientais ao fármaco interferente endócrino estrogênico de estudo, ao passo que também será discutida as principais técnicas laboratoriais utilizadas para identificação química e caracterização do potencial estrogênico do 17 α -etinilestradiol .

Outro aspecto a ressaltar no trabalho diz respeito às concentrações encontradas para a referida substancia em diferentes matrizes aquáticas relatadas em estudos científicos pelo mundo, relacionando essas concentrações com os possíveis efeitos *in vivo* que seriam gerados.

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – O sistema endócrino e os seus interferentes

O sistema endócrino, presente sobretudo em animais, está (em conjunto com o sistema nervoso) intimamente relacionado ao controle de funções vitais, influenciando na função dos demais sistemas corporais (Berne *et al.*, 2010)

É composto por órgãos que possuem como função a síntese de hormônios. Os hormônios podem agir tanto localmente quanto serem lançadas na circulação sistêmica, indo atuar em outras áreas do organismo e modulando suas atividades (Berne *et al.*, 2010).

Hormônios são considerados sinalizadores químicos. Eles atuam na comunicação entre distintos tipos celulares, que reconhecem os hormônios por apresentarem receptores específicos, havendo um reconhecimento molecular. A interação entre o hormônio e seu receptor provoca uma resposta biológica específica (Hardman e Limbird, 2005).

Os hormônios estrogênicos esteroidais naturais, como o estradiol, a estrona e o estriol, estão presentes em todos os animais vertebrados e em algumas espécies de insetos. Embora apresentem diferentes papéis nesses organismos, sua função mais marcante e notória está relacionada à maturação sexual e ao desenvolvimento de características sexuais femininas (Ryan, 1982 e Mechoulam *et al.*, 1984).

Na espécie humana, esses hormônios são sintetizados majoritariamente pelos ovários em mulheres que não atingiram a menopausa. Nos homens e em mulheres pós-menopausa a sua produção é essencialmente extragonadal e está relacionada a transformação metabólica de androgênios de 19 carbonos, sobretudo testosterona e androstenediona, em 17 beta estradiol e estrona. Essa reação é mediada pela enzima aromatase e ocorre particularmente em células mesenquimais do tecido adiposo, nos osteoblastos e condrócitos ósseos, no endotélio vascular e células do músculo liso da aorta e em diferentes locais no cérebro (Simpson, 2003)

Existem substâncias exógenas de ocorrência no ambiente que apresentam atividade estrogênica, isto é, são capazes de interagir com os receptores estrogênicos endógenos, influenciando na interação dos hormônios aos seus receptores e, com isso, alterando a resposta hormonal (Zacharewski, 1997).

Essas substâncias podem ter ocorrência natural, como os fitoestrógenos sintetizados no metabolismo de plantas e micoestrógenos no de fungos, ou serem sintéticas, antropogênicas.

Esses compostos exógenos, como o 17 α -Ethinilestradiol, estão inseridos em um grande grupo de substâncias chamadas interferentes ou desreguladores endócrinos, que na língua inglesa são chamados de “Endocrine Disruptors Compounds” ou EDC’s.

Interferente ou desregulador endócrino pode ser definido como: “todo agente exógeno que interfere na síntese, reserva, liberação, transporte, metabolismo, ligação, ação ou eliminação de hormônios naturais dos organismos e responsáveis pela regulação da homeostase e de processos de desenvolvimento” (Kavlock *et al.*, 1996). Esses compostos se caracterizam por promover modificações no sistema endócrino dos organismos, podendo gerar consequências negativas à saúde destes e/ou de seus descendentes.

Os interferentes endócrinos podem atuar sobre diversos alvos biológicos, tais como receptores estrogênicos, receptores androgênicos, sobre a tireóide, entre outros. Uma mesma substância pode ter atividade sobre mais de um alvo biológico, como por exemplo o agrotóxico metoxicloro, que apresenta ação estrogênica e anti-androgênica (Ostby *et al.*, 1999).

Essas substâncias estão largamente difundidas na vida cotidiana, estando presente em diversas matrizes, tais como:

a) Água para consumo humano e Alimentos: onde se destacam os fitoestrógenos em plantas, agrotóxicos nos vegetais e na água, as substâncias liberadas pelas embalagens, como os ftalatos e bisfenol A (Wilkinson e Lamb, 1999) e os próprios hormônios estrogênicos esteroidais provenientes de fonte

animal, desde a carne até o leite (inclusive seus derivados) e ovos (Hartmann *et al.*, 1998).

Para a espécie humana, a maior parte dos interferentes endócrinos absorvidos provém da via oral, de alimentos e água contendo essas substâncias (Reys, 2001).

b) Produtos cosméticos, como algumas preparações para a pele, banho e cabelo, contendo alquilfenóis (Birkett e Lester, 2003).

d) Produtos da queima do papel e de plásticos, como as dioxinas e furanos, e de combustíveis fósseis, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ou HPA's (Santodonato, 1997).

f) Produtos utilizados em instalações elétricas, as bifenilas policloradas, e diversos produtos e subprodutos provenientes da indústria química, como saneantes industriais e domésticos, tintas, lubrificantes e emulsificantes, também contendo alquilfenóis e alquilfenóis etoxilados (Bila e Dezotti, 2007)

g) Substâncias orgânicas polibromadas, que são usadas como retardadores de chama em eletrônicos e tecidos (Birkett e Lester, 2003).

f) Conservantes parabenos, usados em formulações farmacêuticas e cosméticas (Reys, 2001).

Em termos históricos, a preocupação com os efeitos relacionados à exposição aos EDC's provém do início do século XX, com a observação da efeitos estrogênicos em animais de laboratório expostos a extratos de órgãos e tecidos reprodutivos femininos (Allen e Doisy, 1923).

Posteriormente, nas décadas de 60 e 70, é relatada a hipótese de associação, entre o uso de dietilestilbestrol (DES) com o surgimento de neoplasia vaginal em mulheres jovens que haviam sido expostas a esta substância antes de seu nascimento (Herbst *et al.*, 1971). Há também o relato de aparecimento de efeitos reprodutivos em animais causados pelo agrotóxico organoclorado Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT), principalmente através da publicação do livro "Silent Spring" por Rachel Carson, em 1962 .

No início da década de 90, há um recrudescimento do interesse no estudo dessas substâncias. Foi de suma importância para isto a Conferência de Wingspread em 1991, por estimular a discussão sobre as evidências de

efeitos à saúde em diferentes organismos pela exposição a substâncias químicas ambientais.

Neste contexto, é possível ressaltar o estudo de Carlsen *et al.*, 1992, mostrando evidências da diminuição da qualidade seminal de homens, em um período de 50 anos. Também foi muito relevante a publicação do livro “Our Stolen Future: Are We Threatening Our Fertility, Intelligence, and Survival?” por Colborn *et al.*, em 1997, que relata as evidências, apontadas em diversos estudos científicos, de ações de desregulação no sistema endócrino e principalmente de efeitos reprodutivos em diferentes espécies causadas pela exposição a interferentes endócrinos.

Ações governamentais buscando incentivar a pesquisa, avaliar e buscar soluções para a questão foram e estão sendo elaboradas. Entre as diversas iniciativas, é possível destacar o Programa de avaliação de desreguladores endócrinos da Agência de Proteção Ambiental dos EUA (EDSP – USEPA). Este programa atua no desenvolvimento e validação de testes laboratoriais, na triagem e seleção de substâncias que serão analisadas, e na implementação de políticas e procedimentos que a referida agência usará para essas substâncias, discutindo o risco ambiental e até humano que elas podem representar. (USEPA, 2012).

Os principais questionamentos sobre a exposição a interferentes endócrinos e seus efeitos ambientais e sobre humanos seriam (Bila e Dezotti, 2007):

- Quais substâncias seriam capazes de produzir efeitos deletérios, quais seriam estes efeitos, a partir de qual concentração e se esta concentração é superada nas matrizes ambientais.
- Dúvidas para se estabelecer concentrações máximas em que não se observa efeitos adversos aos organismos vivos.
- Possibilidade de Elaborar novas metodologias e avaliar as atuais no que tange a identificar e caracterizar as concentrações dessas substâncias nas diferentes matrizes e/ou prever as consequências causadas pelos interferentes endócrinos em organismos expostos, e se estas metodologias seriam acessíveis para o uso em monitoramento.

É possível dividir os interferentes endócrinos em grandes grupos. Para Birkett e Lester, 2003, os principais grupos de substâncias interferentes endócrinas seriam :

- Substâncias poliaromáticas: substâncias retardadoras de chama (normalmente substâncias orgânicas polibromadas), Bifenilas policloradas (BPC's) e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA's)
- Agrotóxicos: pentaclorofenol linuron, atrazina e o hexaclorobenzeno, entre outros.
- Esteróides: 17 β -estradiol, dietilestilbestrol, 17 α -etinilestradiol, estrona, estriol e mestranol.
- Compostos orgânicos oxigenados: os principais exemplos seriam o bisfenol A e os diversos ftalatos.
- Alquilfenóis: octilfenol, o nonilfenol, e o nonilfenol etoxilado .

1.2 – Mecanismo de ação dos interferentes endócrinos

Os interferentes endócrinos podem atuar através de diferentes mecanismos de ação, como expostos no quadro 1 abaixo. É importante salientar que muitas desses compostos ainda não apresentam um mecanismo de ação totalmente elucidado e que a mesma substância pode ter mais de um mecanismo de ação, como por exemplo o praguicida metoxicloro, considerado uma substância estrogênica e também antiandrogênica (Ostby *et al.*, 1999).

Quadro 1 : Mecanismos de ação de Interferentes endócrinos em animais

Mecanismo de ação	Definição
Mimetizar (Agonismo)	O interferente Endócrino, em virtude de sua analogia estrutural com o hormônio natural, poderia se acoplar ao receptor de hormônio
Bloquear (Antagonismo)	Certos interferentes endócrinos interagem com o receptor hormonal, tendo capacidade de bloquear a ligação do

	hormônio natural com este receptor
Mecanismo de ação	Definição
Depleção de hormônios	Estimulam processos de degradação e eliminação do hormônio, gerando uma depleção da concentração deste nos organismos.
Estimular	Promovem a síntese de novos receptores hormonais dentro da célula, gerando múltiplos sinais
Inibir enzimas	Atuam inibindo enzimas cuja função está relacionada a lise de hormônios
Destruir	Atuam promovendo a destruição do hormônio ou na perda da capacidade deste último em cumprir sua função. Há modificação na estrutura do hormônio direta ou indiretamente, resultando em problemas na interação com o sítio receptor. Adicionalmente, podem ocasionar modificações nos padrões de síntese dos hormônios

Fonte: Adaptado de Bila, 2005.

1.3 – Conceitos de toxicidade e avaliação do risco à saúde

Para compreendermos os efeitos à saúde dos organismos provocados pela exposição aos interferentes endócrinos, é necessário compreender alguns conceitos básicos de toxicologia.

A dose se relaciona com a quantidade total de uma substância recebida pelo organismo. Geralmente expressa em unidades de massa ou volume por massa de peso corpóreo (exemplo: mg por kg corpóreo) . As vias digestiva dérmica/cutânea, e respiratória são algumas das principais portas de entrada das substâncias nos organismos em exposição ambiental (FUNASA,2002).

A DL₅₀ é a dose necessária de uma substância para produzir a morte de 50% dos organismos expostos (Hodge e Sterner, 1949). É normalmente expressa em unidades de massa por massa de peso corpóreo e elaborada a

partir de estudos de experimentação em animais e outras espécies. É um parâmetro de toxicidade aguda. A partir da DL_{50} é possível estabelecer uma classificação das substâncias por sua toxicidade aguda (Hodge e Sterner, 1949), como mostrado no Quadro 2 abaixo.

Quadro 2: Classificação Toxicológica das Substâncias segundo seu DL_{50}

Classificação	DL_{50} (em rata, por via oral)
.Extremamente tóxico	$< 1 \text{ mg.Kg}^{-1}$
Altamente tóxico	$1-50 \text{ mg.Kg}^{-1}$
Moderadamente tóxico	$50-500 \text{ mg.kg}^{-1}$
Ligeiramente tóxico	$0,5-5 \text{ g.Kg}^{-1}$
Praticamente não tóxico	$5-15 \text{ g.Kg}^{-1}$
Relativamente não tóxico	15 g.Kg^{-1}

Fonte: Hodge e Sternes, 1949

Já a CE_{50} ou DE_{50} é a dose da substância que promove o aparecimento de um efeito em metade da população de organismos estudados. Expressa normalmente em unidade de massa por volume (CE_{50}) ou unidades de massa por massa de peso corpóreo (DE_{50}), se constituem como indicadores de potência, representando o quão capaz é a substância em gerar uma determinada resposta (FUNASA, 2002)

Para o entendimento sobre o risco de exposição humana e ambiental, é necessário também estabelecer os conceitos de risco, perigo e avaliação de risco.

Os perigos estão relacionados a evento, agente ou condição que teria a capacidade de gerar efeitos indesejados a partir de suas características intrínsecas. Já o risco seria uma probabilidade com que esse perigo se manifestasse, tendo uma conotação quantitativa (Freitas, 2002)

No contexto toxicológico, se considera risco como a chance de ocorrer um efeito indesejado para a saúde humana ou dos ecossistemas a partir de

uma exposição a um estressor ambiental (físico, químico ou biológico), que teria a capacidade de induzir resposta adversa.

Já a avaliação de risco seria uma ferramenta para mensurar esses riscos a saúde, descrevendo-os de acordo com a sua natureza e magnitude, auxiliando numa tomada de decisão quanto ao estabelecimento de um risco aceitável para um determinado agente estressor (Freitas, 2002).

A avaliação de risco envolve as etapas de identificação do perigo, avaliação de toxicidade (utilizando de uma relação dose-resposta), avaliação da exposição e caracterização do risco (National Research Council, 1983).

A relação dose-resposta, mencionada acima, é expressa através de uma curva que está relacionada a incidência de um defecho, mostrando a proporção de uma população em estudo que apresenta um determinado defecho para cada dose estudada (Freitas, 2002).

Essa curva pode ser influenciada por fatores relacionados a suscetibilidade individual, principalmente os relacionados a polimorfismos genéticos de enzimas de metabolização da(s) substância(s) em teste. Outro dado toxicológico importante é a curva dose-efeito, que expressa uma relação entre a dose e a intensidade de um efeito graduado, para uma população ou indivíduo (Hardman e Limbird, 2005).

Todas as informações supracitadas auxiliam no estabelecimento de limites de segurança ou tolerância na exposição a substâncias tóxicas (expressos em doses de referencia ou ingestão diária aceitável). Para se estabelecer os limites de exposição segura em substâncias não carcinogênicas, são usados parâmetros como LOAEL (“Low Observable Adverse Effect Level” ou nível/dose mais baixo no qual um efeito adverso é observado) e NOAEL, (“No observable Adverse Effect Level” ou nível/dose mais alto no qual não se observa efeito adverso (OPAS/USEPA, 1996).

Esses parâmetros são obtidos através de uma curva dose-resposta realizada com estudos de experimentação animal em diversas doses da

substância em teste, e esses dados são extrapolados para a espécie humana com auxílio de fatores de segurança que englobam fatores de incerteza e ponderação, para que se assegure um menor risco e maior proteção na exposição humana a essa substância (OPAS/USEPA, 1996).

No caso de substâncias carcinogênicas, que podem causar danos com qualquer dose de exposição, são utilizadas técnicas de avaliação do risco quantitativo, tentando extrapolar os efeitos para doses baixas com auxílio de modelos matemáticos (OPAS/USEPA, 1996).

A produção de efeito tóxico pode também estar relacionada a exposição a mais de uma substância, havendo efeitos antagônicos, sinérgicos, aditivos e/ou potenciais entre as mesmas, conforme definido abaixo (FUNASA, 2002):

-Efeito antagônico: o efeito obtido pela mistura de substâncias, em uma determinada dose, será menor que o esperado quando há a exposição individual de cada substância sobre o referido organismo, nesta mesma dose

- Efeito aditivo: o efeito obtido pela mistura de substâncias, em uma determinada dose, será igual a soma dos efeitos individuais de cada substância envolvida sobre este organismo. Muitas vezes, é difícil avaliar esses efeitos aditivos para substâncias estrogênicas, uma vez que muitas delas não apresentam uma curva dose-resposta linear

- Efeito sinérgico: o efeito final obtido pela mistura será maior que o esperado, sendo superior a soma aritmética dos efeitos individuais de cada uma das substâncias envolvidas..

- Efeito potencial: uma substância terá seu efeito aumentado ao interagir com outra que, originalmente, não apresenta aquele efeito.

De forma geral, alguns dos principais fatores relacionados à geração do efeito tóxico dos agentes químicos em uma exposição ambiental são (FUNASA, 2002 ; Freitas, 2002):

- Propriedades intrínsecas à substância: propriedades físico-químicas (lipofilia, solubilidade em água, estado físico, tamanho molecular, etc), natureza dos subprodutos formados, ligação à proteínas circulantes, persistência ambiental, carcinogenicidade e mutagenicidade.
- Características atreladas ao organismo: idade, espécie, fatores genéticos (polimorfismos de enzimas), estado nutricional e imunológico, ausência ou presença de patologias pré-existentes, gênero sexual, peso corporal e estado emocional
- Caracterização da exposição: frequência e duração da exposição, vias de entrada no organismo, rota de exposição no ambiente
- Propriedades atreladas ao ambiente: influências causadas pela temperatura, radiação solar, umidade, entre outros.

1.4 – Efeitos Relatados aos interferentes endócrinos

Os principais efeitos à saúde dos organismos provocados dos interferentes endócrinos são, segundo Bila (2005), distúrbios no sistema reprodutivo animal, englobando estímulo de hermafroditização ou feminização de espécies, prejuízo no desenvolvimento das gônadas e diminuição da reprodução. O quadro 3 abaixo relata alguns dos efeitos dessas substâncias documentados em estudos científicos.

Quadro 3: Efeitos nos ecossistemas provocados por interferentes endócrinos

Espécie	Agente tóxico	Efeito Relatado	Referência
Mamífero	Bisfenol A	Danos ao sistema reprodutivo de ratos	Markey <i>et al.</i> , 2003
	PCB	Aumento na mortalidade de golfinhos	Aguilar e Borrel, 1994

	DDT	Distúrbios no sistema reprodutivo de ratos	Bitman <i>et al.</i> , 1968
Espécie	Agente tóxico	Efeito Relatado	Referência
Réptil	DDE e DDT	Diminuição das concentrações plasmáticas de hormônios sexuais e alterações estruturais nas gônadas (havendo diminuição do tamanho peniano) dos jacarés.	Guillette <i>et al.</i> , 1996 e 1999, Milnes <i>et al.</i> , 2002
Mexilhão	Efluente de ETE	Estimulo a liberação de vitelogenina na circulação sistêmica e distúrbios de crescimento da concha dos mexilhões.	Gagné <i>et al.</i> , 2001
Moluscos	TBT e TPT	Masculinização de espécies fêmeas	Fernandez <i>et al.</i> , 2002
Tartaruga	17-beta estradiol	Estímulo a liberação na circulação de vitelogenina e distúrbios na produção de ovos	Irwin <i>et al.</i> , 2001
Pássaros	Pesticidas	Diminuição da fertilidade	Fry, 1995
	DDT	Indução da Feminização em gaivotas macho	Fry e Toone, 1981
	DDT	Distúrbios no sistema reprodutivo	Bitman <i>et al.</i> , 1968
Anfíbios	atrazina	Distúrbios no sistema reprodutivo e diminuição da população	Dalton, 2002
	Efluente de ETE	Estimulação a liberação de vitelogenina na circulação sistêmica e hermafroditização da espécie	Bogi <i>et al.</i> , 2003

Fonte: BILA, 2005

Em relação aos efeitos na espécie humana, devido a enorme gama de substâncias químicas que estão submetidos no cotidiano e a ausência de estudos de experimentação em humanos (por óbvios motivos éticos), é difícil elucidar claramente a associação da exposição a uma única substância com um determinado desfecho.

Para estabelecer uma associação causal entre um determinado desfecho e uma exposição são necessários (Rothman e Greenland, 2008):

- Associação matemática exposição-desfecho, com significância estatística, em estudos epidemiológicos bem delineados, com o controle de variáveis de confundimento e evitando, o quanto for possível, os vieses.
- Consistência dos resultados, devendo haver similaridade entre os resultados encontrados nos diferentes estudos científicos.
- Estabelecimento de uma sequência temporal, que assegure que a exposição vem antes do desfecho e que quanto maior a exposição, maior será a probabilidade de ocorrência e magnitude desse desfecho
- Plausibilidade biológica, ou seja, é necessário elucidar os mecanismos bioquímicos e fisiopatológicos relacionando o efeito do agente tóxico no desenvolvimento do desfecho.

Para as substâncias desreguladoras endócrinas, as maiores suspeitas estão relacionadas à alteração dos parâmetros do sêmen (diminuição da qualidade seminal), anomalias nos órgãos reprodutivos, distúrbios na tireoide (que poderiam estar relacionado a problemas de crescimento) e aumento da incidência de neoplasias de testículo, mama, e próstata (CSTEE, 1999).

Há evidências mais contundentes na exposição ao DDT e seus derivados e prejuízo nos parâmetros de qualidade seminal (De Jager *et al.*, 2006 e Aneck-Hahn *et al.*, 2007) e na relação entre o câncer vaginal e cervical e a exposição intrauterina ao dietilestilbestrol (Herbst *et al.*, 1971).

Existem ainda suspeitas de impacto ao sistema imunológico por estrogênios naturais e sintéticos (Ahmed, 2000), e aumento da incidência de casos de impotência, decréscimo da libido e das concentrações plasmáticas de androgênios no sangue (Waring E Harris, 2005).

1.5 – Dados sobre o interferente endócrino de escolha: 17 α -Etinilestradiol

1.5.1 – Estrutura Química, Características Físico-Químicas e Classificação Toxicológica

A fórmula molecular do 17 α -Etinilestradiol é $C_{20}H_{24}O_2$ e sua estrutura química, mostrada na figura 1, é bastante semelhante a do hormônio natural 17 β -estradiol, ambos apresentando 3 anéis de 6 carbonos (sendo um deles aromático e ligado a uma hidroxila, se caracterizando como um anel fenólico) e um anel de 5 carbonos, ligado a uma hidroxila .

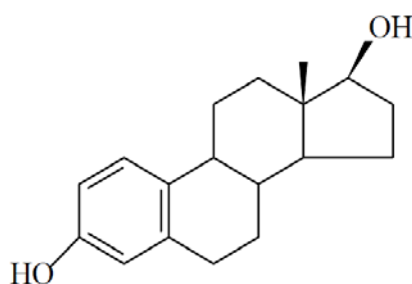


Figura 1 (a) – 17 β -estradiol

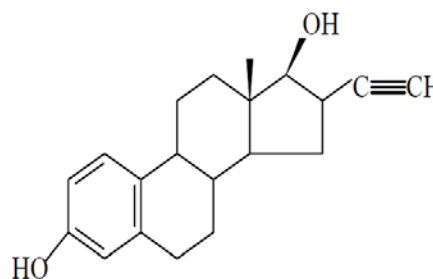


Figura 1 (b) - 17 α -etinilestradiol

Figura 1: Estrutura Química do 17 β -estradiol (a) e do 17 α -etinilestradiol (b)

O anel fenólico aromático presente é o responsável pela atividade biológica, isto é, ele proporciona a atividade estrogênica das substâncias. A presença do grupo etinil no carbono 17 proporciona uma potencia por via oral aumentada, devido a inibir o metabolismo de primeira passagem hepática (Hardman e Limbird, 2005)

Em relação as propriedades físico-químicas, o 17 α -etinilestradiol é fármaco sintético de alta lipofilia, de relativamente baixa solubilidade em água, com boa absorção por via oral, capaz de se ligar fortemente a proteínas circulantes e apresentando excreção pelas urina e fezes no ser humano, grande parte na forma conjugada e inativa com glicuronídeos e sulfatos (Ying *et al.*, 2002, Lai *et al.*, 2000) .

Alguns autores (Coleman *et al.*, 2004; D'Ascenzo *et al.*, 2003; Baronti *et al.*, 2000) associam as concentrações encontradas de etinilestradiol e estrogênios naturais em afluentes e efluentes das estações de tratamento de águas residuais, com a hipótese de que bactérias no esgoto, sobretudo *Escherichia Coli*, poderiam desfazer a reação de conjugação, regenerando-os em sua forma ativa .

Também é documentado que a conjugação glicurônica gera um produto com menor persistência ambiental, apresentando uma degradação biológica mais facilitada que o estrogênio conjugado a sulfato (D'Ascenzo *et al.*, 2003)

Em relação a sua toxicidade aguda, é relatado um DL₅₀ para essa substancia, de 2952 mg.kg⁻¹ em ratos e 1737 mg.kg⁻¹ em camundongos (Goldenthal,1971), sendo classificada como ligeiramente tóxica em exposição aguda por via oral

Na espécie humana, apresenta biodisponibilidade por via oral de cerca de 40%, interagindo vastamente com proteínas plasmáticas, tendo tempo de meia vida biológica de 7,7 horas e meia vida de eliminação (tempo necessário para que o organismo depure 50% da dose absorvida da substancia) de 13 a 27 horas (Kanarkowski *et al.*, 1988, e Goebelsmann, 1986).

1.5.2 – Mecanismo de Ação do 17 α -etinilestradiol

Por se caracterizar como um hormônio esteroidal sintético de forte analogia estrutural ao 17 beta estradiol, seu mecanismo de ação será bastante

similar a deste ultimo, atuando fortemente e de forma agonista com receptores estrogênicos ER α e ER β , presentes no citoplasma celular e no núcleo celular.

Após a interação no citoplasma, que ocorre no domínio de ligação hormonal de ER α e ER β , o complexo receptor-ligante entra no núcleo celular, havendo uma modificação na conformação do receptor, ao qual é capaz de interagir com sequencias promotoras do DNA intituladas elementos de resposta ao estrogênio, promovendo um controle da transcrição gênica e regulando a formação de mRNA . Estes últimos interagem com ribossomos havendo a tradução em proteínas específicas, modificando o metabolismo celular (Brzozowski *et al.*, 1997, Gaido *et al.*, 1997)

Alguns dos principais alvos dos estrogênios incluem células do trato reprodutivo feminino, as células mamarias, ósseas, hepáticas e células do hipotálamo e pituitária (Hardman e Limbird, 2005).

Os estrogênios, como o 17 α -etinilestradiol, são capazes de atuar na glândula pituitária suprimindo a liberação de hormônio folículo estimulante (FSH) e do hormônio Luteinizante (LH). A combinação de estrogênio e progestogênio também inibe o eixo hipotálamo-pituitária, diminuindo a secreção de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH). A ação de contracepção ocorrerá devido a deficiência no desenvolvimento e maturação folicular, inibindo a formação de óvulos capazes de serem fecundados (Hardman e Limbird, 2005).

1.5.3 – Dados de consumo mundial do 17 α -etinilestradiol

O 17 α -Etinilestradiol é normalmente utilizado em doses entre 10 a 50 μ g em medicamentos anticoncepcionais orais (conjuntamente com progestogênios) e seus outros usos clínicos incluem tratamento de sintomas da perimenopausa, da obstrução mamária pós-parto, no sangramento uterino, na terapia hormonal para mulheres com hipogonadismo, e na terapia paliativa

para carcinoma maligno de próstata e mama (Associação Internacional de Pesquisa sobre o Câncer - IARC, 2012).

Em relação ao seu consumo mundial, cerca de 881 milhões de unidades farmacêuticas contendo essa substância foram vendidos no mundo em 2006, 129 milhões na América Latina (Ims Health , 2005, apud IARC, 2007).

1.5.4 – Efeitos Deletérios a saúde relacionados ao uso humano em Terapia de reposição Hormonal e como contraceptivo

Segundo a IARC, os contraceptivos orais, caracterizados por uma associação entre substância estrogênicas (incluindo o 17 α -etinilestradiol) e progestogênios na mesma formulação, estão classificados no grupo 1, sendo definidos como reconhecidamente carcinogênicos na espécie humana, estando relacionado ao surgimento de câncer de mama, colo uterino e de fígado (IARC, 2012).

De acordo com esta mesma entidade, a terapia de reposição hormonal unicamente com estrogênios (entre os quais o 17 α -etinilestradiol) também estaria enquadrada no grupo 1 (reconhecidamente carcinogênico para espécie humana), e estaria envolvido no desenvolvimento de câncer de endométrio, e ovário, havendo também uma associação positiva para câncer de mama (IARC, 2012).

Os mecanismo envolvidos na atividade carcinogênica dos estrogênios não estão totalmente elucidados, sendo propostos 3 mecanismos que poderiam explicar tal ação (Hardman e Limbird, 2005):

- a) Os estrogênios induziriam proliferação celular, e tal ação poderia estar relacionada ao aumento de defeitos espontâneos na replicação do DNA
- b) Após as mutações terem se estabelecido em células alvo (pela ação de substancias carcinogênicas diversas), os estrogênios induziriam a proliferação de clones com defeitos genéticos.

c) Geração de espécies reativas de oxigênio capazes de gerar danos nas bases do DNA, oriundas de biotransformação de estrogênios catecóis em quinonas ou semiquinonas.

O 17 α -etinilestradiol também está relacionado a síndrome de Disgenesia Testicular principalmente por exposição materna no período fetal, já que o etinilestradiol interage com pouca eficiência a globulina de ligação dos hormônios sexuais, e com isso conseguirá atravessar a barreira placentária atingindo o feto (Vidaef *et al.*, 2005, e Sharpe *et al.*, 2003).

Alguns dos efeitos à saúde humana conhecidos no uso do 17 α -etinilestradiol são encontrados no Quadro 4.

Quadro 4: Possíveis Efeitos do 17 α -etinilestradiol na saúde humana no uso em terapia de reposição hormonal ou como contraceptivo.

Ação do 17 α-etinilestradiol	Tipo de Estudo	Tamanho amostral	Fonte
Náuseas, hipersensibilidade das mamas (associação etinilestradiol + desogestrel)	Ensaio Clínico	10.672	Fotherby (1992)
Aumento da incidência de cálculos biliares	Revisão sistemática	-	Uhler <i>et al.</i> (2000)
Menor sensibilidade à glicose (associação etinilestradiol + drospirenona)	Ensaio Clínico	80	Oelkers <i>et al.</i> (1995)
Aumento da pressão arterial (associado a progestogênio)	Estudo Epidemiológico	68 297	Chasan-Taber (1996)
Ação protrombótica e elevação dos riscos de Tromboembolismo Venoso	Revisão Sistemática	-	Ouyang <i>et al.</i> (2006)

Em relação ao efeito do 17 α -etinilestradiol na formação de cálculos biliares, é relatado que essa substância promoveria uma elevação da saturação da bile com o colesterol e redução da secreção de ácidos biliares (Heuman *et al.*, 1980)

O efeito de elevação da pressão arterial foi explicitado no estudo de Chasan-Taber *et al.* (1996) em que, após 4 anos de seguimento, o desenvolvimento de hipertensão arterial em mulheres usuárias de anticoncepcionais orais (sendo o etinilestradiol o estrogênio mais frequentemente utilizado) apresentou um risco duas vezes superior, quando comparadas a mulheres que não utilizaram este método contraceptivo.

O mecanismo que explique a ação dos anticoncepcionais orais na hipertensão ainda não está totalmente elucidado, mas a principal suspeita recai sobre a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (Lewington *et al.*, 2002).

1.5.5 – Principais metodologias laboratoriais para caracterização da atividade, identificação e quantificação química do 17 α -etinilestradiol em matrizes ambientais

Diferentes metodologias são disponíveis para a caracterização, identificação e quantificação do 17 α -etinilestradiol em uma matriz ambiental (sobretudo aquática), existindo ensaios *in vivo*, *in vitro* e métodos químicos analíticos disponíveis.

Entre os ensaios *in vivo*, é possível destacar os ensaios com uso de roedores e os realizados com peixes.

Nos ensaios em peixes, é mensurada a capacidade da substância (ou da mistura de substâncias em determinada concentração ou mesmo de um efluente) de induzir a síntese de vitalogenina em peixes machos.

A vitelogenina é uma proteína presente na circulação sistêmica em espécies de animais ovíparos, estando em concentrações baixas nas espécies macho e alta nas fêmeas, e sua função está relacionada à maturação dos óvulos (Irwin *et al.*, 2001)

A expressão do gene de vitelogenina está relacionada às concentrações de estrogênios no organismo e por isso se consideram os níveis de vitelogenina como um marcador de feminização de peixes e de exposição a substâncias interferentes endócrinas estrogênicas (Korach e Mclachlan, 1995).

A mensuração da vitelogenina é realizada por radioimunoensaio ou por imunoensaio enzimático (ELISA).

Já o ensaio *in vivo* com roedores é capaz de mensurar as modificações da massa uterina de roedores (ensaio uterotrófico) ou então detectar alterações na histologia de células do epitélio da mucosa vaginal (ensaio de cornificação da mucosa vaginal). Seu uso é menos difundido, em virtude dos problemas éticos do uso de animais e do elevado custo em comparação com outros ensaios.

Em relação aos ensaios *in vitro*, os principais são o teste YES, o teste de ligação competitiva nos receptores de estrogênio e o teste E-Screen

No teste YES (sigla para “Yeast Estrogen Screen”), elaborado por Routledge e Sumpter (1996) é utilizada uma levedura de *Saccharomyces cerevisiae* geneticamente manipulada, ao qual em seu genoma foi adicionada uma sequência de DNA do receptor de estrogênio humano. Com isso, esse teste é capaz de analisar a atividade estrogênica da substância, ou seja, a capacidade que a substância possui em interagir com o receptor de estrogênio humano e produzir uma resposta.

A mensuração no ensaio YES é colorimétrica, por espectrofotometria, ao qual a enzima β -galactosidase, formada de acordo com a atividade estrogênica da substância(ou mistura de substâncias), metaboliza e gera uma mudança de cor de amarelo para vermelho do agente cromogênico clorofenol vermelho- β -D-

galactopiranosida, presente no meio de análise. Os resultados obtidos no teste YES são comparados aos do padrão de 17 β -estradiol, sendo expresso em concentração equivalente de 17 β -estradiol.

O ensaio E-Screen é fundamentado no efeito de multiplicação de células de carcinoma mamário humano MCF-7 estimulado pela exposição a substâncias com atividade estrogênica. Neste ensaio é utilizado um soro, inserido no meio de análise para inibir a replicação das células MCF-7. As substâncias com atividade estrogênica seriam capazes de anular esse efeito inibitório e estimular a proliferação dessas células tumorais.

O período de incubação das células é de 4 a 6 dias, sendo realizado na presença e na ausência da substância padrão (17 β -estradiol) e da amostra em teste. A mensuração da proliferação celular pode ser feita através de contagem do número de células ou núcleos (Soto *et al.*, 1995) ou por método colorimétrico (Körner *et al.*, 1998).

No teste de ligação competitiva aos receptores de estrogênio é analisada a capacidade da substância em teste de disputar com o padrão de estrogênio (no caso, é usado o 17 β -estradiol radiomarcado) a ligação com os receptores estrogênicos, sendo os resultados mensurados com o auxílio de um cintilador líquido

Alguns estudos que submetem as mesmas substâncias-teste a ensaios *in vitro* e *in vivo*, como o de Folmar *et al.*, 2002, ao qual mostram que as substâncias apresentam maior potência *in vivo* que *in vitro*, explicitando a dificuldade dos ensaios *in vitro* de emular completamente as condições *in vivo*.

Nas análises químicas, normalmente não se mensura a atividade ou o efeito biológico da(s) substâncias, porém permite identificar e quantificar as concentrações das espécies químicas em uma matriz ambiental complexa e de componentes desconhecidos, algo que não é possível nos ensaios *in vivo* e *in vitro*.

As principais metodologias químicas utilizadas para analisar interferentes endócrinos (como o 17 α -etinilestradiol) devem ser capazes de detectar essas substâncias, presentes normalmente em concentrações baixas em matrizes ambientais aquáticas, numa faixa de $\mu\text{g.l}^{-1}$ ou mesmo ng.l^{-1} .

Essas metodologias englobam uma etapa preliminar de extração (permitindo uma purificação e pré concentração da amostra, sendo a extração de fase sólida a mais utilizada) e a determinação através de cromatografia líquida ou a gás (usando ou não a derivatização), normalmente acoplada a um detector de espectrômetro de massas (Brossa *et al.*, 2002).

Há também ensaios imunoenzimáticos, fundamentados no princípio da interação específica entre um antígeno e um anticorpo, sendo este último a substância de interesse (ou a mistura delas) presente na matriz ambiental.

Esses ensaios são normalmente precedidos por uma etapa preliminar de extração, visando uma purificação e pré concentração da amostra (Farre *et al.*, 2006), e um dos principais métodos imunoenzimáticos utilizados para análise do 17 α -etinilestradiol é o ensaio de imunoadsorção enzimática, também chamado de teste ELISA.

O teste ELISA pode ser policlonal ou monoclonal. No policlonal, é detectada essa substância em conjunto com outras (normalmente os estrogênios naturais), não sendo capaz de caracterizar individualmente a concentração de cada uma das substâncias desse grupo presentes na amostra.

Já o teste ELISA monoclonal é altamente específico, detectando uma única substância ou espécie química, podendo ser usado quantitativamente e gerando resultados confiáveis e muitas vezes em concordância com análises cromatográficas (Farre *et al.*, 2006).

2 – OBJETIVOS

2.1 - Objetivo Geral

Ao longo deste trabalho, são abordados os efeitos na saúde humana e dos ecossistemas pela exposição por fontes ambientais ao fármaco interferente endócrino estrogênico 17 α -etinilestradiol.

2.2 - Objetivos específicos:

- Explicitar as técnicas laboratoriais utilizadas para identificação química e caracterização do potencial estrogênico do 17 α -etinilestradiol em matrizes ambientais aquáticas.

- Mostrar as concentrações encontradas para a referida substância em matrizes aquáticas relatadas em estudos científicos.

3 - METODOLOGIA

Foi utilizada a revisão da literatura científica como ferramenta metodológica para o desenvolvimento deste trabalho.

Foram pesquisadas publicações em revistas científicas, livros, teses e monografias nas bases de dados ISI Web of knowledge e Google Acadêmico, com resultados at

As palavras chave usadas foram: etinilestradiol, saúde humana, interferente endócrino, saúde animal, esgoto, rio, concentração ambiental, exposição ambiental e seus correspondentes em língua inglesa

A escolha das publicações utilizadas foi feita mediante disponibilidade da publicação completa para consulta e também pela análise do material obtido.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

Utilizando a base de dados ISI Web of Knowledge e os descritores especificados no capítulo 3 em língua inglesa, foi possível montar os quadros 5 e 6 abaixo, com os resultados da pesquisa bibliográfica. Foi possível notar que não se obteve resultados com a intersecção de descritores em língua portuguesa utilizando essa base de dados.

Quadro 5 – Resultados obtidos da busca bibliográfica na base ISI Web of Knowledge utilizando diferentes descritores

Descritores Usados	Número de publicações encontradas
Ethinylestradiol + river + environmetal concentration	36
Ethinylestradiol + Endocrine Disruptor + Environmental concentration	23
Ethinylestradiol + Environmental exposure + Human Health	6
Ethinylestradiol + Environmental exposure + environmetal concentration	10
Ethinylestradiol + river + human health	5
Ethinylestradiol + animal health + wastewater	2
Ethinylestradiol + environmetal concentration + animal health	1
environmetal exposure + Ethinylestradiol +river	19
Ethinylestradiol + river + wastewater	52
Ethinylestradiol + wastewater + environmetal concentration	41
Combinações em língua portuguesa análogas às que usaram descritores os em língua inglesa	0

Quadro 6 – Ano em que foram publicados os artigos científicos encontrados

Ano da Publicação	Resultados
2005	14
2006	17
2007	23
2008	21
2009	25
2010	31
2011	34
2012	30

Observando os dados obtidos nos quadros 5 e 6, é possível notar que a maior parte das 195 publicações obtidas está relacionada a detecção desse estrogênio em rios ou em esgotos (sobretudo domésticos), e que foram encontradas relativamente poucas publicações relacionando as exposições ambientais ao 17 α -etinilestradiol à efeitos na saúde animal e humana. Além disto, foi observado uma tendência de crescimento do número de publicações ao longo dos anos na série 2005-2012, com exceção dos ano de 2008 e 2012.

No que tange ao conteúdo das publicações e na presença dessa substância nos compartimentos ambientais, foi possível observar que o 17 α -etinilestradiol é um fármaco largamente difundido no ambiente, tendo entrada contínua nas matrizes aquáticas através de efluentes da indústria farmacêutica/farmoquímica e pelo esgoto humano, lançado sem tratamento ou com tratamento convencional não totalmente eficaz para remover essa substância (Ternes *et al.*, 1999), e com isso permitindo sua difusão nas águas superficiais, subterrâneas e até mesmo na água de consumo humano (Stumpf *et al.*, 1999).

Essa substância pode ser encontrada inclusive em chorumes de aterros sanitários (Behnisch *et al.*, 2001), em sedimentos marinhos (Lai *et al.*, 2000) e

no lodo de estações de tratamento de efluente utilizado na agricultura, podendo promover uma contaminação do solo (Ternes *et al.*, 2002).

Existem trabalhos mostrando a presença do fármaco até mesmo em mangues, como o estudo de Froehner *et al.*(2011), ao qual encontrou concentrações de $129.75 \pm 3.89 \text{ ng.g}^{-1}$ em amostras de sedimento do mangue Itacorubi, em Santa Catarina-Brasil.

Embora o uso do 17α -etinilestradiol como fator de crescimento na criação de animais (sobretudo gado) seja ilegal em muitos países, estudos mostram que essa forma de contaminação dos ambientes aquáticos não pode ser descartada (Matthiessen *et al.*, 2006).

Restringindo a atenção aos estudos que pesquisaram essa substância em ambientes aquáticos, foi observado, ao ser analisado o quadro 5 (concentrações encontradas de 17α -etinilestradiol em diferentes matrizes e locais no Brasil) e o quadro 6 (Concentrações relatadas de 17α -Etinilestradiol em matrizes aquáticas no mundo, adaptado de Ferreira, 2008) que essa substância está presente em concentrações na faixa de ng.l^{-1} .

Entre os diversos estudos, é possível destacar o de Gerolin, 2008, em que foi encontrada uma alta concentração do fármaco tanto na água dos rios que são utilizados para obter a água de beber quanto também nesta última.

Naquele estudo, foi relatada uma deficiente remoção do 17α -etinilestradiol na estação de tratamento de água, ao qual a eficiência de remoção na estação de Sumaré foi de 41% e na de Campinas foi de 38%.

Já no estudo de Ternes *et al.*,1999, a Estação de Tratamento de Efluentes (ETE) da PENHA-RJ as taxas de remoção para o fármaco foram de 64% e 78% no filtro biológico e no sistema de lodos ativados, respectivamente.

Quadro 7: Concentrações encontradas de 17 α -etinilestradiol em diferentes matrizes e locais no Brasil

Matriz	Local	Concentração Relatada	Referencia
Água Potável	Campinas e Sumaré – SP	275 e 472, ng.L ⁻¹ respectivamente	Gerolin E.R. (2008)
Água de Rio	Campinas e Sumaré – SP	444 e 758 ng.L ⁻¹ respectivamente	Gerolin E.R. (2008)
Esgoto Doméstico	ETE Penha – RJ	5 ng.L ⁻¹	Ternes <i>et al.</i> (1999)
Água Potável	Seropédica – RJ	Não detectado	Kuster <i>et al.</i> (2009)
Água Potável	São Luiz – MA	Não detectado	Verbinnen <i>et al.</i> (2010)
Água de Rio	Rios Paraíba do Sul, Macaé, Guandu, Lagoa Rodrigo de Freitas e Lagoa De Jacarepaguá – RJ - Brasil	Não Detectado ou abaixo do limite de quantificação	Kuster <i>et al.</i> (2009)

Quadro 8 : Concentrações relatadas de 17 α -Etinilestradiol em matrizes aquáticas no mundo.

Local	Concentração	Referência
ETE(s) da Noruega, Suécia, Finlândia, Países Baixos, Bélgica, Alemanha, França e Suíça	1,1 ng.L ⁻¹	Johnson <i>et al.</i> (2005)
ETE Alemanha	1,5 ng.L ⁻¹	Pawlowski <i>et al.</i>

		(2004)
Local	Concentração	Referência
ETE França	4,9 a 7,1 ng.L ⁻¹ para afluente e 2,7-4,5 ng.L ⁻¹ para efluente tratado	Cargouët <i>et al.</i> (2004)
ETE Alemanha	Efluente tratado: 0,1 a 8,9 ng.L ⁻¹	Kuch e Ballschmitter (2001)
Águas Superficiais - EUA	73 ng.L ⁻¹	Kolpin <i>et al.</i> (2002)
Águas Superficiais e Água Potável – Alemanha	Água superficial : 0,10 a 5,1 ng.L ⁻¹ Água potável: 0,15 a 0,50 ng.L ⁻¹	Kuch e Ballschmitter (2001)
Águas superficiais - França	1,1 a 2,9 ng.L ⁻¹	Cargouët <i>et al.</i> (2004)

Fonte: adaptado de FERREIRA, 2008

Em relação aos efeitos provocados pelo 17 α -etinilestradiol, é relatado a este composto um alto potencial estrogênico *in vitro* (Beck *et al.*, 2006), com potência e estabilidade em água superior aos estrogênios naturais (Snyder *et al.*, 1999).

É apontado que essa substância, em conjunto com os hormônios naturais, geraria a maior parte da atividade estrogênica em efluentes de ETE no Reino Unido (Desbrow *et al.*, 1998) e que seria o mais potente interferente endócrino para peixes (Jurgens *et al.*, 2002)

Alguns estudos, como o de Purdom *et al.*, 1994, mostram que, na concentração de 0,1 ng.L⁻¹, o 17 α -etinilestradiol seria capaz de estimular a expressão da vitelogenina em peixes, já na faixa de concentração de 0,1 a 15 ng.L⁻¹ poderia interferir na diferenciação sexual e que na faixa de concentração de 2 a 10 ng.L⁻¹ haveria indícios de prejuízo a fecundidade.

O efeito de exposições crônicas ao 17 α -etinilestradiol, em concentração de 5 ng.L⁻¹ também poderia trazer prejuízos na fecundidade da prole dos peixes (Nash et al., 2004)

A descrição de efeitos em animais relatados na literatura causados pela exposição ao 17 α -etinilestradiol está contida no quadro 7 (Principais efeitos do 17 α -etinilestradiol em diferentes espécies animais, adaptado de Bila,2005).

Muitos estudos mostram efeitos aditivos e sinérgicos envolvendo essa substância, resultando em um aumento da atividade estrogênica, o que poderia tornar ainda mais preocupante a presença do 17 α -etinilestradiol no ambiente.

É relatado efeito aditivo entre o 17 α -etinilestradiol e 17 β -estradiol em ensaio in vitro YES (Chen *et al.*, 2007) e em mistura de substâncias contendo 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, nonilfenol, octilfenol e bisfenol A em ensaio in vivo de indução de vitelogenina em peixes machos (Brian *et al.*, 2005).

Já os efeitos sinérgicos são relatados, em teste YES, na combinação das substâncias 17 β -estradiol, 17 α -etinilestradiol, nonilfenol e bisfenol A (Chen *et al.*, 2007)

Quadro 9 – Principais Efeitos do 17 α -etinilestradiol em diferentes espécies animais

Ação	Espécie	Fonte
Estimulação de Vitelogenina	Peixes de água salgada e água doce (Danio rerio, <i>Pimephales promelas</i> , <i>Cyprinodon varlegatus</i>)	Schmid <i>et al.</i> , 2002, Rose <i>et al.</i> , 2002 Folmar <i>et al.</i> , 2002
Aumento da Mortalidade da espécie	Peixe de água Doce (<i>Pimephales promelas</i>)	Schmid <i>et al.</i> , 2002
Diminuição da reprodução	Peixe de água Doce (<i>Pomatoschistus</i>)	Robinson <i>et al.</i> , 2002

	<i>minutus)</i>	
Ação	Espécie	Fonte
Retardo do crescimento e diminuição da reprodução	Ratos Machos (<i>Rattus norvegicus</i>)	Vosges <i>et al.</i> , 2008
Alteração da proporção entre sexos	Peixe de água Doce (<i>Pimephales promelas</i>)	Parrot e Blunt, 2005
Infertilidade e Redução da Fecundidade	Peixe de água doce (<i>Danio rerio</i>)	Nash <i>et al.</i> , 2004

Fonte: Adaptado de Bila, 2005

Ao se observar as concentrações da substância relatadas na literatura, como as mostradas nos quadros 5 e 6 e nos achados de Purdom *et al.*, 1994, é possível levantar fortes suspeitas de que o 17 α -etinilestradiol possa desenvolver efeitos reprodutivos adversos na biota (sobretudo em espécies de peixes) presentes nessas matrizes aquáticas .

Em relação ao estabelecimento de concentrações de exposição segura dessa substância, ainda não há um consenso.

A Agência Ambiental da Inglaterra e Gales, em uma revisão bibliográfica sobre os estrogênios naturais e o 17 α -etinilestradiol, concluiu que a concentração prevista em que não se observariam efeitos (PNEC) desse estrogênio na biota marinha e de água doce seria 0,1 ng.L^{-1} (Young *et al.*, 2004).

Há estudos recentes nessa área, sendo possível destacar o de Caldwell *et al.*, 2008, ao qual, a partir de revisão de dados de concentração em que não se observa efeitos reprodutivos de 26 espécies em 39 publicações, concluiu que a PNEC para esse estrogênio sintético seria de 0,35 ng.L^{-1} .

Em relação aos desfechos associados a exposição humana 17 α -etinilestradiol por fontes ambientais, estes ainda não estão totalmente elucidados. As principais suspeitas são: infertilidade masculina (Vosges *et al.*, 2008) e distúrbios de crescimento em crianças (Andersson *et al.*, 1999).

Os Grupos mais suscetíveis a exposição seriam os pré-adolescentes masculinos (cuja produção endógena de estrogênios é situada em $0,5 \mu\text{g.kg}^{-1}.\text{dia}^{-1}$, segundo Vosges *et al.*, 2008) e as mulheres pós menopausa (Andersson *et al.*, 1999, Klein *et al.*, 1996 e Vosges *et al.*, 2008).

Estudos de avaliação de risco a saúde humana para 17 α -etinilestradiol de fontes ambientais, concluem que as concentrações seriam insuficientes para produzir danos à saúde humana (Cao *et al.*, 2010 ; Webb *et al.*, 2003 ; Caldwell *et al.*, 2009).

No entanto, é questionável o efeito aditivo dessa substância com outras substâncias estrogênicas no ambiente e a contribuição dessas em uma exposição crônica e precoce (Vosges *et al.*, 2008).

É possível questionar também o contexto das áreas estudadas, uma vez que esses estudos relatam condições de países desenvolvidos, ao qual grande parte dos domicílios possui esgotamento sanitário adequado, diferindo da inexistência ou precariedade das condições de saneamento presentes e possível contaminação das águas superficiais usadas para abastecimento público de água em diversas cidades de países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento

5 - CONCLUSÃO

Frente ao panorama abordado ao longo deste trabalho, foram observados os riscos envolvidos na exposição ambiental ao interferente endócrino estrogênico 17 α -Ethinilestradiol.

Foi possível notar que os efeitos das exposições ambientais ao 17 α -etinilestradiol estão relacionados à hermafroditização de espécies macho, diminuição da fecundidade e fertilidade e ao aparecimento de tumores ou doenças em tecidos reprodutivos (Bila, 2005).

Além disto, também foi explicitado que a associação entre a exposição ambiental ao 17 α -Ethinilestradiol e seus efeitos decorrentes é apresentada com mais dados e evidências para os efeitos nos ecossistemas que nos efeitos a saúde humana, embora hajam questionamentos a respeito da contribuição desse potente estrógeno artificial em conjunto com outras substâncias estrogênicas presentes na vida moderna, em um cenário de exposição crônica e em doses diárias baixas (Vosges *et al.*, 2008).

Diferentes metodologias analíticas foram desenvolvidas para avaliar a atividade estrogênica (ensaios *in vitro*, como o ensaio YES e E-screen, e ensaios *in vivo*, como os ensaios de mensuração da vitelogenina em peixes) e para mensurar as concentrações específicas (principalmente por metodologias cromatográficas e por ELISA monoclonal) do 17 α -Ethinilestradiol em diferentes matrizes ambientais, sobretudo aquáticas, sendo detectadas em concentrações na faixa de ng.l^{-1} .

Desta forma, entre as soluções possíveis para este problema, é possível destacar:

a) Elaboração de uma Campanha de comunicação dos riscos sobre a exposição a substâncias interferentes endócrinas à população, envolvendo a imprensa, as diferentes esferas de governo e movimentos sociais/ambientais, estimulando também o consumo racional dos medicamentos (incluindo

medicamentos anticoncepcionais orais) pela população e a prescrição adequada do profissional médico.

b) Fiscalização, por parte de organismos de vigilância ambiental e sanitária, da disposição segura dos medicamentos, seguindo as legislações vigentes

c) Atuação governamental, com plano de metas e prazos definidos, exigindo das empresas públicas ou privadas de água e saneamento, a expansão da rede da cobertura do tratamento de esgoto e produção/distribuição de água de consumo humano nas cidades, e apoio técnico a instalações sanitárias adequadas nas áreas rurais.

e) Incentivo governamental e privado à pesquisa de novos tratamentos e otimização dos sistemas atuais de tratamento de águas e efluentes sanitários

f) Estímulo à reutilização da água (água de reuso).

g) Revisão Periódica da Portaria do Ministério da Saúde 2914/2011, norma que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e da Resolução CONAMA 430/2011, que Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos receptores, visando incluir concentrações máximas permitidas na água potável e nos efluentes tratados para substâncias estrogênicas que já tenham seus valores de referência para exposição segura documentados na literatura científica

6 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, A., BORRELL, A. Abnormally High Poly chlorinated Biphenyl Levels in Striped Dolphins (*Steneua Coeruleoalba*) Affected by the 1990-1992.

Mediterranean Epizootic. **The Science Total Environmental**, v. 154, pp. 237-247, 1994.

ALLEN, E.; DOISY, E. A. An Ovarian Hormone: Preliminary Report On Its Localization, Extraction And Partial Purification, And Action In Test Animals. **JAMA: The Journal of the American Medical Association**, v. 81, n. 10, p. 819-821, 1923.

ANDERSSON, A. M.; SKAKKEBAEK, N. E. Exposure to exogenous estrogens in food: possible impact on human development and health. **European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies**, v. 140, n. 6, p. 477-485, 1999.

ANECK-HAHN, N. H. et al. Impaired Semen Quality Associated With Environmental DDT Exposure in Young Men Living in a Malaria Area in the Limpopo Province, South Africa. **Journal of Andrology**, v. 28, n. 3, p. 423–434, 2007.

AHMED, S. The immune system as a potential target for environmental estrogens (endocrine disrupters): a new emerging field. **Toxicology**, v. 150, n. 1–3, p. 191-206, 2000.

BARONTI, C. . Monitoring Natural and Synthetic Estrogens at Activated Sludge Sewage Treatment Plants and in a Receiving River. **Water Environmental Science Technology**, v. 34, n. 24, p. 5059-5066, 2000.

BECK, I. C., et al. Analysis of Estrogenic Activity in Coastal Surface Waters of the Baltic Sea Using the Yeast Estrogen Screen. **Chemosphere**, v. 63, pp. 1870–1878, 2006

BEHNISCH, P. A. et al. Estrogenic and Dioxin-Like Potency in each step of a Controlled Landfill Leachate Treatment Plant in Japan. **Chemosphere**, v. 43, pp. 977-984, 2001

BERNE, R. M.; KOEPPEN; STANTON, B. A. **Berne & Levy physiology**. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier, 2010

BIRKETT, J. W., LESTER, J. N., **Endocrine Disrupter in Wastewater and Sludge Treatment Process**, CRC Press LLC, Florida, 2003.

BILA, D. M., **Degradação e Remoção da Atividade Estrogênica do Desregulador Endócrino 17 β -Estradiol pelo Processo de Ozonização**, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M.; Desreguladores Endócrinos no Meio Ambiente: Efeitos e Consequências, **Quimica Nova**, 30 (3), 651-666, 2007.

BITMAN, J. et al. Estrogenic Activity of o, p'-DDT in the Mammalian Uterus and Avian Oviduct. **Science**, v. 162, pp. 371-372, 1968.

BOGI, C. et al. Endocrine Effects of Environmental Pollution on *Xenopus laevis* and *Rana temporaria*. **Environmental Research**, v. 93, pp. 195–201. 2003

BRASIL. **Lei nº 9.605**, de 12 de fevereiro de 1998. Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências. Disponível em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9605.htm, acessado em 20/06/2012.

BRASIL. **Lei nº 12.305**, de 2 de agosto de 2010. Institui a Política Nacional de Resíduos Sólidos; altera a Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998; e dá outras providências. Disponível em http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2010/lei/l12305.htm, acessado em 20/06/2012

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 306**, de 7 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Disponível em www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B20735-1-0%5D.PDF, acessado em 20/06/2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução CONAMA nº 358**, de 29 de abril de 2005. Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços

de saúde e dá outras providências. Disponível em www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35805.pdf, acessado em 20/06/2012.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente, CONAMA. **Resolução CONAMA nº 430**, de 13 de maio de 2011. Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente. Disponível em www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=646, acessado em 20/06/2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria 2914**, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/.../prt2914_12_12_2011.html, acessado em 20/06/2012.

BRIAN, J. V. et al. Accurate prediction of the response of freshwater fish to a mixture of estrogenic chemicals. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 6, p. 721-728, 2005.

BROSSA et al. Application of on-line solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry to the determination of endocrine disruptors in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 963, n. 1-2, p. 287-294, 2002.

BRZOZOWSKI, A. M. et al. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. **Nature**, v. 389, n. 6652, p. 753-758, 1997.

CALDWELL, D. J. et al. Derivation of an Aquatic Predicted No-Effect Concentration for the Synthetic Hormone, 17 α -Ethinyl Estradiol. **Environmental Science Technology**, v. 42, n. 19, p. 7046-7054, 2008.

CALDWELL, D. J. et al. An Assessment of Potential Exposure and Risk from Estrogens in Drinking Water. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 3, p. 338-344, 2009.

CAO, Q.; YU, Q.; CONNELL, D. W. Fate simulation and risk assessment of endocrine disrupting chemicals in a reservoir receiving recycled

wastewater. **The Science of the Total Environment**, v. 408, n. 24, p. 6243-6250, 2010.

CARGOUËT, M., et al. Assessment of River Contamination by Estrogenic Compounds in Paris Area (France). **Science of the Total Environmental**, v. 324, pp. 55-66, 2004.

CARLSEN, E. et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. **BMJ (Clinical Research Ed.)**, v. 305, n. 6854, p. 609-613, 1992.

CARSON, R. **Silent Spring**. Book Club edition ed. [s.l.] HOUGHTON MIFFLIN HARCOURT, 1962.

CHASAN-TABER, L. et al. Prospective study of oral contraceptives and hypertension among women in the United States. **Circulation**, v. 94, n. 3, p. 483-489, 1996.

CHEN, P.-J. et al. Biological assessments of a mixture of endocrine disruptors at environmentally relevant concentrations in water following UV/H₂O₂ oxidation. **The Science of the Total Environment**, v. 376, n. 1-3, p. 18-26, 2007.

CHRISTENSEN, F. M. Pharmaceuticals in the Environment: A Human Risk? **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 28, n. 3, p. 212-221, 1998.

COLBORN, T.; DUMANOSKI, D.; MEYERS, J. P. **Our Stolen Future: Are We Threatening Our Fertility, Intelligence, and Survival? - A Scientific Detective Story**. [S.l.] Plume, 1997.

COLEMAN, H. M. et al. Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilised titanium dioxide catalyst. **Water Research**, v. 38, n. 14-15, p. 3233-3240, 2004.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process Working Papers**. Washington, D.C.: The National Academies Press, 1983.

COMMITTEE ON TOXICITY, ECOTOXICITY AND THE ENVIRONMENT, (CSTEE), 1999. **Human and Wildlife Health Effects of Endocrine Disrupting Chemicals, with Emphasis on Wildlife and on Ecotoxicology Test Methods**.

- D'ASCENZO, G. et al. Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities. **Science of The Total Environment**, v. 302, n. 1–3, p. 199-209, 2003.
- DALTON, R. B. Frogs Put in the Gender Blender by America's Favourite Herbicide. **Nature**, v. 416, pp.665-666, 2002
- DAVIS, D. L. et al. Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. **Environmental Health Perspectives**, v. 101, n. 5, p. 372-377, 1993.
- DESBROW, C. et al. Identification of Estrogenic Chemicals in STW Effluent. 1. Chemical Fractionation and in Vitro Biological Screening. **Environmental Science Technology**, v. 32, n. 11, p. 1549-1558, 1998.
- DE JAGER, C. et al. Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico: a cross-sectional study. **Journal of andrology**, v. 27, n. 1, p. 16–27, 2006.
- EVANS, R. M. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. **Science** v. 240, n. 4854, p. 889-895, 1988.
- FARRE, M. et al. Evaluation of commercial immunoassays for the detection of estrogens in water by comparison with high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry HPLC-MS/MS (QqQ). **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 385, n. 6, p. 1001-1011, 2006.
- FERNANDEZ, M. A. et al. Ocorrência de Imposex em *Thais Haemastoma*: Possíveis Evidências e Contaminação Ambiental Por Compostos Organotínicos no Rio de Janeiro e em Fortaleza, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.18 (2), p.463-476, 2002.
- FERNANDEZ, S. V.; RUSSO, J. Estrogen and Xenoestrogens in Breast Cancer. **Toxicologic pathology**, v. 38, n. 1, p. 110-122, 2010.
- FOLMAR, L. C. et al. Comparative Estrogenicity of Estradiol, Ethynyl Estradiol and Diethylstilbestrol in an in vivo, Male Sheepshead Minnow (*Cyprinodon variegatus*), Vitellogenin Bioassay. **Aquatic Toxicology**, v. 49, pp. 77-88, 2000

- FOLMAR, L. C. et al. A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor in vivo and in vitro. **Aquatic Toxicology**, v. 60, n. 1-2, p. 101-110, 2002.
- FOTHERBY, K. Clinical experience and pharmacological effects of an oral contraceptive containing 20 micrograms oestrogen. **Contraception**, v. 46, n. 5, p. 477–488, 1992.
- FREITAS, Carlos Machado de. Avaliação de riscos como ferramenta para a vigilância ambiental em Saúde. **Informações Epidemiológicas do Sus**, Brasília, v. 11, n. 2002 .
- FROEHNER, S. et al. Occurrence of Sexual Hormones in Sediments of Mangrove in Brazil. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 219, n. 1-4, p. 591-599, 12 2011.
- FRY, D. M. e TONNE, C. K. DDT – Induced Feminization of Gull Embryos. **Science**, v. 213, pp. 922-924, 1981
- FRY, D. M. Reproductive Effects in Birds Exposed to Pesticides and Industrial Chemicals. **Environmental Health Perspectives**,v. 103(Suppl 7), pp. 165-171, 1995
- FUNASA – Fundação Nacional da Saúde. **Textos de Epidemiologia para Vigilância Ambiental em Saúde**. Brasília, Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2002.
- GAIDO, K. W. et al. Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast-based steroid hormone receptor gene transcription assay. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 143, n. 1, p. 205-212, 1997.
- GAGNÉ, F. et al. Evaluation of Estrogenic Effects of Municipal Effluents to the Freshwater Mussel *Elliptio Complanata*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**. v. 128, pp. 213-225, 2001
- GEROLIN, E.R. **Ocorrência e remoção de disruptores endócrinos em águas utilizadas para abastecimento publico de campinas em Sumaré – SP** . 2008. tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 2008

- GOEBELSMANN, U. 1986. Pharmacokinetics of contraceptive steroids in humans. Pp. 67-111 in **Contraceptive Steroids: Pharmacology and Safety**, A. T. Gregoire and R. T. Blye, eds. New York: Plenum Press
- GOLDENTHAL, E. I. A compilation of LD50 values in newborn and adult animals. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 18, n. 1, p. 185-207, 1971.
- GUILLETE, L. J. J. et al. Reduction in Penis Size and Plasma Testosterone Concentrations in Juvenile Alligators Living in a Contaminated Environment. **General and Comparative Endocrinology**, v. 101, pp. 32-42, 1996
- GUILLETTE, L. J. J. et al. Plasma Steroid Concentrations and Male Phallus Size in Juvenile Alligators from Seven Florida Lakes. **General and Comparative Endocrinology**, v. 116, pp. 356–372, 1999
- HARDMAN J.G., LIMBIRD L.E., **Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics**, 10th ed., 2005. McGraw-Hill, New York
- HARTMANN, S.; LACORN, M.; STEINHART, H. Natural occurrence of steroid hormones in food. **Food Chemistry**, v. 62, n. 1, p. 7-20, 1998.
- HERBST, A. L.; ULFELDER, H.; POSKANZER, D. C. Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women. **The New England Journal of Medicine**, v. 284, n. 15, p. 878-881, 1971.
- HEUMAN, R. et al. Effects of postmenopausal ethinylestradiol treatment on gallbladder bile. **Maturitas**, v. 2, n. 1, p. 69-72, 1980.
- HODGE, H. C.; STERNER, J. H. Tabulation of Toxicity Classes. **American Industrial Hygiene Association Quarterly**, v. 10, n. 4, p. 93-96, 1949.
- INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 100A** (2012) - A Review of Human Carcinogens: Pharmaceuticals
- INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to**

Humans Volume 91 (2007) - Combined Estrogen-Progestogen Contraceptives and Combined Estrogen-Progestogen Menopausal Therapy
IRWIN, L. K., GRAY, S., OBERDÖRSTER, E. Vitellogenin Induction in Painted Turtle, *Chrysemys Picta*, as a Biomarker of Exposure to Environmental Levels of Estradiol. **Aquatic Toxicology**, v. 55, pp. 49-60, 2001

JOHNSON, A. .; BELFROID, A.; DI CORCIA, A. Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent. **Science of The Total Environment**, v. 256, n. 2–3, p. 163-173, 2000.

JOHNSON, A. C. et al. Comparing Steroid Estrogen, and Nonylphenol Content Across a Range of European Sewage Plants with Different Treatment and Management Practices. **Water Research**, v. 39, pp. 47-58, 2005.

JÜRGENS, M. D. et al. The potential for estradiol and ethinylestradiol degradation in english rivers. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 480–488, 2002.

KANARKOWSKI, R. et al. Pharmacokinetics of single and multiple doses of ethinyl estradiol and levonorgestrel in relation to smoking. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 43, n. 1, p. 23-31, 1988.

KAVLOCK, R. J. et al. Research needs for the risk assessment of health and environmental effects of endocrine disruptors: a report of the U.S. **EPA-sponsored workshop**. p. 715-740, 1996.

KLEIN, K. O. et al. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. II. Estrogen levels as determined by an ultrasensitive bioassay. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 81, n. 9, p. 3203-3207, 1996.

KOLPIN, D. W., et al. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in U.S. Streams, 1999-2000: A National Reconnaissance. **Environmental Science and Technology**, v. 36, n. 6, pp. 1202-1211, 2002.

KORACH, K. S.; MCLACHLAN, J. A. Techniques for detection of estrogenicity. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. Suppl 7, p. 5-8, 1995.

KÖRNER, W. et al. Validation and application of a rapid in vitro assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. **Chemosphere**, v. 37, n. 9-12, p. 2395-2407, 1998.

KUCH, H. M., BALLSCHMITER, K. Determination of Endocrine-Disrupting Phenolic Compounds and Estrogens in Surface and Drinking Water by HRGC-(NCI)-MS in the Picogram per Liter Range. **Environmental Science and Technology**, v. 35, n. 15, pp. 3201-3206, 2001.

KUSTER, M. et al. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). **Environment International**, v. 35, n. 7, p. 997-1003, 2009.

LAI, K. M. et al. Binding of Waterborne Steroid Estrogens to Solid Phases in River and Estuarine Systems. **Environmental Science Technology**, v. 34, n. 18, p. 3890-3894, 2000.

LEWINGTON, S. et al. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. **Lancet**, v. 360, n. 9349, p. 1903-1913, 2002.

MARKEY, C. M., et al., Endocrine Disruptors: From Wingspread to Environmental Developmental Biology. *Journal Steroids Biochemistry & Molecular Biology*, v. 1802, pp. 1-10. 2003

MATTHIESSEN, P. et al. Contamination of headwater streams in the United Kingdom by oestrogenic hormones from livestock farms. **Science of The Total Environment**, v. 367, n. 2–3, p. 616-630, 2006.

MECHOULAM, R.; BRUEGGEMEIER, R. W.; DENLINGER, D. L. Estrogens in insects. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 40, n. 9, p. 942-944, 1984.

MILNES, M. R. et al. Plasma Steroid Concentrations in Relation to Size and Age in Juvenile Alligators From Two Florida Lakes. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 131 pp. 923–930, 2002

NASH, J. P. et al. Long-term exposure to environmental concentrations of the pharmaceutical ethynylestradiol causes reproductive failure in fish. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 17, p. 1725-1733, 2004.

NOGUEIRA, J. M. F. Desreguladores Endócrinos: Efeitos Adversos e Estratégias para Monitoração dos Sistemas Aquáticos, **Química**, v. 88, pp. 65-71, 2003.

OELKERS, W. et al. Effects of a new oral contraceptive containing an antiminerocorticoid progestogen, drospirenone, on the renin-aldosterone system, body weight, blood pressure, glucose tolerance, and lipid metabolism. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 80, n. 6, p. 1816-1821, 1995.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE, AGENCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DOS ESTADOS UNIDOS DA AMERICA. **Taller Nacional de Introducción a la Evaluación y Manejo de Riesgos**. Brasília: OPAS/USEPA; 1996.

OSTBY, J. et al. The Estrogenic and Antiandrogenic Pesticide Methoxychlor Alters the Reproductive Tract and Behavior Without Affecting Pituitary Size or LH and Prolactin Secretion in Male Rats. **Toxicology and Industrial Health**, v. 15, n. 1-2, p. 37-47, 1999.

OUYANG, P.; MICHOS, E. D.; KARAS, R. H. Hormone replacement therapy and the cardiovascular system lessons learned and unanswered questions. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 47, n. 9, p. 1741–1753, 2006.

PARROTT, J. L.; BLUNT, B. R. Life-cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an ethynylestradiol concentration below 1 ng/L reduces egg fertilization success and demasculinizes males. **Environmental Toxicology**, v. 20, n. 2, p. 131-141, 2005.

PAWLOWSKI, S et al. Estrogenicity of Solid Phase-Extracted Water Samples from two Municipal Sewage Treatment Plant Effluents and River Rhine Water using the Yeast Estrogen Screen. **Toxicology in Vitro**, n. 18, pp. 129–138, 2004.

- PURDOM, C. E. et al. Estrogenic Effects of Effluents from Sewage Treatment Works. **Chemistry and Ecology**, v. 8, n. 4, p. 275-285, 1994.
- REYS, L. L., 2001 Tóxicos Ambientais Desreguladores do Sistema Endócrino **RFML Série III**; v. 6 (4), pp. 213-225
- ROBINSON, C. D. et al. Effects of Sewage Effluent and Ethynyl Oestradiol Upon Molecular Markers of Oestrogenic Exposure, Maturation and Reproductive Success in the Sand Goby (*Pomatoschistus minutus*, Pallas). **Aquatic Toxicology**, v. 62 (2), pp. 119-134, 2002.
- ROSE, J. et al. Vitellogenin Induction by 17 β -Estradiol and 17 α -Ethinylestradiol in Male Zebrafish (*Danio rerio*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 131, pp. 531–539, 2002
- ROTHMAN, K. J.; GREENLAND, S. **Modern epidemiology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
- ROUTLEDGE, E. J.; SUMPTER, J. P. Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 15, n. 3, p. 241–248, 1996.
- ROY, J. R.; CHAKRABORTY, S.; CHAKRABORTY, T. R. Estrogen-like endocrine disrupting chemicals affecting puberty in humans--a review. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, v. 15, n. 6, p. RA137-145, 2009.
- RYAN, K. J. Biochemistry of aromatase: significance to female reproductive physiology. **Cancer Research**, v. 42, n. 8 Suppl, p. 3342s-3344s, 1982.
- SANTODONATO, J. Review of the estrogenic and antiestrogenic activity of polycyclic aromatic hydrocarbons: relationship to carcinogenicity. **Chemosphere**, v. 34, n. 4, p. 835-848, 1997.
- SHARPE, R. M. et al. Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. **Reproduction**, v. 125, n. 6, p. 769–784, 2003.
- SCHMID, T. et al. Determination of Vitellogenin Kinetics in Male Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). **Toxicology Letters**, v. 131, pp. 65-74, 2002

SIMPSON, E. R. Sources of estrogen and their importance. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 86, n. 3-5, p. 225-230, 2003.

SINGLETON, D. W.; KHAN, S. A. Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, v. 8, p. s110-118, 2003.

SNYDER, S. A. et al. Analytical Methods for Detection of Selected Estrogenic Compounds in Aqueous Mixtures. **Environmental Science Technology**, v. 33, n. 16, p. 2814-2820, 1999.

SOTO, A. M. et al. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, n. Suppl 7, p. 113-122, out. 1995.

STUMPF, M. et al. Polar drug residues in sewage and natural waters in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 135-141, 1999.

SWEDENBORG, E. et al. Endocrine Disruptive Chemicals: Mechanisms of Action and Involvement in Metabolic Disorders. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 43, n. 1, p. 1-10, 2009.

TERNES, T. .; KRECKEL, P.; MUELLER, J. Behaviour and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants — II. Aerobic batch experiments with activated sludge. **Science of The Total Environment**, v. 225, n. 1-2, p. 91-99, 1999.

TERNES, T. A. et al.,2002. Removal of Pharmaceuticals during Drinking Water Treatment. **Environmental Science Technology**, v. 36 (17), pp. 3855-3863, 2002

UHLER, M. L.; MARKS, J. W.; JUDD, H. L. Estrogen replacement therapy and gallbladder disease in postmenopausal women. **Menopause** (New York, N.Y.), v. 7, n. 3, p. 162-167, 2000.

USEPA – Unites States Environmental Protection Agency. **Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP) home page**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/endo/>>. Acessado em: 24 jun. 2012.

VERBINNEN, R. T.; NUNES, G. S.; VIEIRA, E. M. Determination of estrogens in drinking water using HPLC-DAD. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1837-1842, 2010.

VIDAEFF, A. C.; SEVER, L. E. In utero exposure to environmental estrogens and male reproductive health: a systematic review of biological and epidemiologic evidence. **Reproductive toxicology**, v. 20, n. 1, p. 5–20, 2005.

VOSGES, M.; BRAGUER, J.-C.; COMBARNOUS, Y. Long-term exposure of male rats to low-dose ethinylestradiol (EE2) in drinking water: Effects on ponderal growth and on litter size of their progeny. **Reproductive Toxicology**, v. 25, n. 2, p. 161-168, 2008.

WARING, R. H.; HARRIS, R. M. Endocrine disrupters: a human risk? **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 244, n. 1-2, p. 2-9, 2005.

WEBB, S. et al. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. **Toxicology Letters**, v. 142, n. 3, p. 157-167, 2003.

WETHERILL, Y. B. et al. Xenoestrogen Action in Prostate Cancer: Pleiotropic Effects Dependent on Androgen Receptor Status. **Cancer Research**, v. 65, n. 1, p. 54-65, 2005.

WHO – World Health Organization. **The World Medicines Situation Report 2004**. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/areas/policy/world_medicines_situation/en/index.html>. Acessado em: 5 jun. 2012.

WILKINSON, C. F.; LAMB IV, J. C. The Potential Health Effects of Phthalate Esters in Children's Toys: A Review and Risk Assessment. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 30, n. 2, p. 140-155, 1999.

YING, G.-G.; KOOKANA, R. S.; RU, Y.-J. Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. **Environment International**, v. 28, n. 6, p. 545-551, 2002.

YOUNG, W.F.; WHITEHOUSE, P.; JOHNSON, I.; SOROKIN, N. Proposed Predicted No Effect Concentrations (PNECs) for Natural and Synthetic Steroid Oestrogens in Surface Waters. **Environment Agency R & D**

Technical Report P2-T04/1. Bristol: England and Wales Environment Agency; p.100, 2004

ZACHAREWSKI. In Vitro Bioassays for Assessing Estrogenic Substances. **Environmental Science Technology**, v. 31, n. 3, p. 613-623, 1997.

ANEXO I – ASPECTOS REGULATÓRIOS NO BRASIL

Em relação a legislação sobre o tema da disposição no ambiente adequada dos medicamentos (como os que contém o fármaco 17 α -etinilestradiol), e sobre os parâmetros exigidos na água de consumo humano e para os efluentes lançados nos corpos hídricos , é possível destacar:

- Lei 9605/1998 – Dispõe sobre as sanções penais e administrativas derivadas de condutas e atividades lesivas ao meio ambiente, e dá outras providências . Estabelece que se constitui crime provocar poluição de qualquer natureza que provoque ou possam gerar danos à saúde humana, ou que resulte em destruição dos ecossistemas (mortalidade de peixes e destruição da flora).

- RDC ANVISA numero 306/2004 ; Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Estabelece os medicamentos impróprios para consumo (medicamentos alterados, rejeitados ou com prazo de validade expirado) como resíduo químico do tipo B.

Estabelece também que os serviços de saúde são os responsáveis e devem instituir um plano de gerenciamento adequado de todos os resíduos por eles gerados, seguindo às normas e exigências legais, desde o momento de sua geração até a sua destinação final, sendo submetidos a fiscalização pelos organismos de vigilância sanitária(nacional, federal e municipal), com apoio de Órgãos de Meio Ambiente, de Limpeza Urbana, e da Comissão Nacional de Energia Nuclear.

- Resolução CONAMA nº 358/2005: Dispõe sobre o tratamento e a disposição final dos resíduos dos serviços de saúde e dá outras providências.

Corroborar a RDC ANVISA 306/2004, enfatizando a necessidade de se estabelecer, por parte dos estabelecimentos de serviços de saúde o Plano de Gerenciamento de Resíduos de Serviços de Saúde – PGRSS, em concordância com a legislação vigente,

- Lei 12305/2010: Institui a Política Nacional de Resíduo Sólido, implementando os preceitos da logística reversa do produto comprado pelo consumidor. Embora ainda necessite regulamentação posterior, se essa lei fosse efetivamente aplicada a área farmacêutica, as drogarias e farmácias comunitárias receberiam os medicamentos fora do prazo de validade ou doados/não utilizados pela população e os devolveriam para as distribuidoras de medicamentos ou diretamente para as indústrias farmacêuticas,

Por esta lei, as distribuidoras ou indústrias farmacêuticas seriam responsáveis pela disposição segura dessas substâncias no ambiente, possivelmente através de incineração em altas temperaturas ou disposição final em aterros sanitários classe II (destinados a receber resíduos químicos) .

Em relação às legislações que estabelecem parâmetros de qualidade, com concentrações máximas permitidas das diferentes espécies químicas para a água de consumo humano e para os efluentes tratados, é possível ressaltar:

- Resolução CONAMA 430/2011: Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos receptores. Não contempla concentrações ou valores máximos permitidos no efluente final para fármacos (como o 17 α -etinilestradiol) ou outras substâncias estrogênicas conhecidas, como bisphenol A, entre outros.

Essa resolução estabelece que sejam feitos testes ecotoxicológicos em 2 espécies de diferentes níveis tróficos, a critério do órgão ambiental estabelecido (no caso do Estado do Rio de Janeiro, o responsável seria o Instituto Estadual de Ambiente – INEA), comparando os resultados entre a concentração do efluente gerado no corpo receptor (CECR) , concentração de efeito não observado, e concentração letal média (CL50) , sendo esta última a concentração de efluente que provoca efeito agudo (letalidade ou imobilidade)

a 50% dos organismos em determinado período de exposição, nas condições de ensaio.

Os critérios desta comparação estão explicitados no quadro 8 (Parâmetros ecotoxicológicos exigidos para Lançamento de Efluentes) abaixo:

Quadro 10: Parâmetros Ecotoxicológicos exigidos para Lançamento de Efluentes

Parametros Biologicos	Critério de Ecotoxicidade
Lançamento em águas doces classes 1 e 2, salina e salobras classe 1.	CECR \leq CENO (em teste de toxicidade crônica, em pelo menos 2 níveis tróficos). CECR \leq CL50/10 ou CECR \leq 30/FT (em teste de toxicidade aguda, em pelo menos 2 níveis tróficos).
Lançamento em águas doces classes 3, salina e salobras classe 2.	CECR \leq CL50/3 ou CECR \leq 100/FT (em teste de toxicidade aguda, em pelo menos 2 níveis tróficos).

Fonte: Resolução CONAMA 430/2011.

- Portaria MS 2914/2011: norma que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Assim como a resolução CONAMA 430/2011, não contempla concentrações ou valores máximos permitidos para fármacos (como o etinilestradiol), e não estipula testes ecotoxicológicos