

# Efectos diferidos de contaminantes ambientales y otros agentes en salud reproductiva y sexualidad: un desafío pendiente de la toxicología de la reproducción para la salud de las futuras generaciones

## Delayed effects of environmental pollutants and other agents on reproductive health and sexuality: a pending challenge of reproductive toxicology for future generations health

Dr. Andrei N. Tchernitchin<sup>1</sup>

Sr. Miguel A Mena<sup>2</sup>

### Resumen

---

La exposición perinatal a diversos contaminantes ambientales y a otros agentes químicos afecta en forma irreversible la diferenciación y programación de diversos tipos celulares, alterando cualitativa y cuantitativamente sus receptores hormonales mediante el mecanismo del imprinting, afectando su función y determinando el desarrollo de diversas patologías más tarde en la vida. En el presente trabajo se describen los agentes más conspicuos que actúan por este mecanismo afectando de por vida la salud reproductiva y la sexualidad. La investigación de este mecanismo, la identificación de sus agentes inductores y el desarrollo de medidas legislativas y administrativas para minimizar el daño constituyen un desafío pendiente para mejorar la salud reproductiva de las futuras generaciones.

---

*Palabras clave:* Contaminantes ambientales, exposición perinatal, exposición prenatal, efectos diferidos, efectos irreversibles, salud reproductiva, sexualidad.

---

### Abstract

---

Perinatal exposure to various environmental pollutants and other chemical agents irreversibly affects the differentiation and programming of various cell-types. This process quantitatively and qualitatively alters their hormone receptors through the mechanism of imprinting, affecting their function and determining the development of various pathologies later in life. The present report describes the most conspicuous agents acting through this mechanism, affecting for life reproductive health and sexuality. The study in detail of this mechanism, the identification of imprinting-inducing agents and the development of legislative and administrative measures to minimize damage constitute a pending challenge to improve future generations reproductive health.

<sup>1</sup> Presidente, Departamento de Salud y Medio Ambiente del Consejo Regional Santiago, Colegio Médico de Chile y Profesor Titular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Dirección postal: Casilla 21104, Correo 21, Santiago, Chile; direcciones electrónicas: atcherni@med.uchile.cl, atcherni@gmail.com

<sup>2</sup> Profesor, Universidad de Las Américas, Santiago, Chile

*Key words: Environmental pollutants, perinatal exposure, prenatal exposure, delayed effects, irreversible effects, reproductive health, sexuality.*

## INTRODUCCIÓN

Clásicamente, la toxicología de la reproducción cubre dos áreas: (a) los efectos de la exposición aguda o crónica a agentes que afectan la fisiología de la reproducción o favorecen el desarrollo de patologías relacionadas con la reproducción y la sexualidad, y (b) los efectos diferidos de exposición a agentes que causan un daño al producto de la concepción y que se manifiestan más tarde en la vida, como alteraciones orgánicas, cambios neuroconductuales de la personalidad, y que predisponen al desarrollo de enfermedades, relacionadas o no con la reproducción y la sexualidad.

La exposición aguda o crónica a diversos agentes químicos afecta la acción de los estrógenos en el útero, afectando la función reproductiva en forma precoz o causando un daño acumulativo. Si todas las respuestas estrogénicas fueran mediadas por un solo tipo de receptores a la hormona a través de un mecanismo de acción único (1), sería suficiente evaluar una sola respuesta estrogénica para detectar posibles interacciones de tóxicos con dicha acción hormonal. El hallazgo, en nuestro Laboratorio, de un segundo tipo de receptor para estrógenos (2-7), la descripción de un nuevo mecanismo de acción para la hormona (7-15) independiente del mecanismo clásico (6, 7, 12, 14, 16-18), y la existencia adicional de otros receptores estrogénicos (19-23), hacen posible la disociación de las diversas respuestas estrogénicas bajo el efecto de diversos agentes químicos, demostrada para compuestos estrogénicos como estriol (24), estradiol-17 $\alpha$  (7), dietilstilbestrol (25), clomifeno (26), nafoxidina (14, 27), 2(OH)-estradiol-17 $\beta$  y 4(OH)estradiol-17 $\beta$  (28), y para varios fármacos (17) y tóxicos ambientales (18, 29, 30). La posibilidad de interacciones selectivas entre agentes químicos y algunos de los receptores de estrógeno en el útero indica la necesidad de la investigación por separado de todas las respuestas estrogénicas, en cada uno de los tipos celulares uterinos, y las investigaciones

más recientes (*vide infra*) muestran las interacciones selectivas de diversos agentes químicos con sólo algunas respuestas estrogénicas (26), que no han sido detectadas en estudios previos que consideraban solo una respuesta a la hormona o un mecanismo de acción hormonal único (*vide infra*).

La exposición aguda o crónica a diversos agentes ambientales también determina efectos adversos en forma diferida en el tiempo. Entre los efectos diferidos más conocidos están las malformaciones congénitas, las mutaciones y el desarrollo de neoplasias malignas. Las malformaciones congénitas se producen por efecto de la exposición a diversos contaminantes y otros compuestos durante los primeros meses de vida intrauterina. Las mutaciones se producen por modificación del material genético por efecto de estos compuestos, que se detectan en laboratorios como alteraciones cromosómicas claramente visibles, o como un aumento en la incidencia de mutaciones en diversos microorganismos; si afectan las células de la línea germinal, su gravedad para la especie humana es consecuencia de la persistencia en el tiempo, a través de las generaciones, del aumento de diversas patologías de tipo hereditario. Los carcinógenos promueven el desarrollo de diversos tipos de neoplasia, que muchas veces son específicas para cada uno de los contaminantes que las causan. Sólo recientemente se le está dando importancia a los efectos diferidos que producen diversos compuestos químicos que acceden al organismo durante la vida fetal tardía o durante los primeros años de la vida postnatal por el mecanismo del imprinting, y que ocasionan cambios en la diferenciación o programación de algunos tipos celulares que se encuentran en períodos críticos de su desarrollo, de tal manera que estos cambios se hacen irreversibles y pueden detectarse en períodos más tardíos de la vida, en cuando determinan el desarrollo de diversas patologías. El presente trabajo describe en detalle

los mecanismos involucrados en el imprinting y los principales efectos diferidos en salud reproductiva y en sexualidad causados por exposición perinatal a contaminantes ambientales y otros agentes químicos.

### **Mecanismos del imprinting o reprogramación celular**

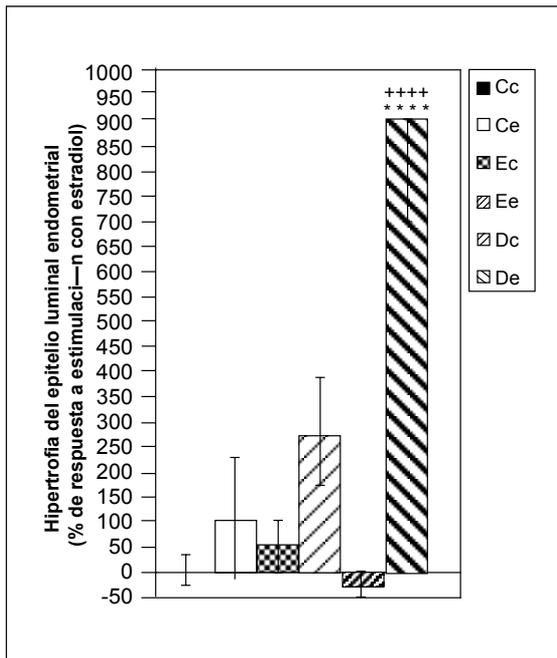
La primera de las alteraciones diferidas producidas por exposición prenatal a sustancias exógenas fue descubierta a consecuencia del desarrollo de adenocarcinomas cervicovaginales en mujeres jóvenes cuyas madres han sido tratadas durante su embarazo con el estrógeno sintético dietilstilbestrol (31). Estos hallazgos fueron confirmados en modelo experimental de animal de laboratorio (32), marcando el inicio de numerosos estudios sobre los efectos diferidos de la exposición a diversos compuestos durante el período fetal tardío o el período postnatal precoz.

Los primeros estudios fueron realizados sobre la acción de diversas hormonas y xenobióticos con acción hormonal. Se ha detectado que la exposición prenatal o postnatal precoz a dietilstilbestrol y a otros compuestos con acción hormonal, incluyendo algunos estrógenos naturales y varios fitoestrógenos causa, además, otras alteraciones en el tracto genital femenino que pueden ser detectados en la adolescencia o durante la edad adulta. En el ser humano, las alteraciones más frecuentemente encontradas eran infertilidad, alteraciones del ciclo menstrual, presencia de quistes ováricos y tendencia a los abortos habituales. En la rata y el ratón se han descrito alteraciones equivalentes, y además, alteraciones en los niveles de receptores y en la acción de los esteroides sexuales en el útero. Estos efectos permitieron, al biólogo húngaro Györgi Csaba, enunciar la hipótesis del *imprinting* hormonal, de acuerdo a la cual, la exposición de los fetos a determinados compuestos hormonalmente activos durante períodos críticos de su desarrollo inducen cambios irreversibles en la acción de estas hormonas o de hormonas de estructura similar (33, 34). Estas alteraciones pueden ser detectadas durante períodos más tardíos de la vida, aún durante la edad adulta, como modificaciones en la actividad de los receptores de estas hormonas y

en la intensidad de las respuestas mediadas por éstos (35, 36). Estudios realizados en nuestro Laboratorio demostraron que la exposición prenatal a dietilstilbestrol causa un gran incremento en al menos una respuesta a estimulación estrogénica durante la edad prepuberal (21 días) en animales de laboratorio, la hipertrofia del epitelio luminal uterino, en comparación con animales no expuestos prenatalmente a dietilstilbestrol (Fig. 1). Este incremento en casi 10 veces de la respuesta a estradiol sugiere que ésta se debe a una alteración en la diferenciación de las células afectadas por exposición prenatal a dietilstilbestrol, quedando éstas programadas para tener un mayor número de receptores estrogénicos, y en consecuencia, una potenciación de la respuesta a la hormona. Un incremento en la proliferación celular por efecto del estímulo estrogénico puede explicar el desarrollo de tumores malignos en mujeres (31) y en animales de experimentación (32) prenatalmente expuestos a dietilstilbestrol. Este efecto es un ejemplo que explica el desarrollo de diversas enfermedades, muchas veces en forma tan diferida como durante la edad adulta, por exposición prenatal a hormonas sintéticas o a exceso o carencia de hormonas naturales.

Estudios posteriores efectuados por diversos científicos, algunos de ellos en nuestro Laboratorio, nos permitieron ampliar la hipótesis enunciada por Csaba y extenderla al efecto causado por la exposición prenatal a compuestos no hormonales (37), traduciendo como *fijación de vías de heterodiferenciación celular* el término inglés *imprinting*. En consecuencia, no solamente la exposición prenatal o postnatal precoz a hormonas, sino que también a diversos compuestos químicos, tales como contaminantes ambientales, fármacos, aditivos de los alimentos, componentes naturales de los alimentos y aún el stress, pueden causar alteraciones irreversibles en la diferenciación normal de diversos tipos celulares del organismo. Estas se manifiestan como modificaciones cualitativas y cuantitativas en diversos receptores hormonales y enzimas de estos tipos celulares, que se evidencian como cambios morfológicos, bioquímicos y funcionales de estas células, las que, al igual que en el caso de la exposición a compuestos hormonales, puede originar el desarrollo de diversas enfermedades más tarde en la vida.

De acuerdo a nuestra hipótesis (37), numerosas enfermedades que afectan a los adultos puede tener su origen en la exposición prenatal o postnatal temprana a diversos agentes inductores de heterodiferenciación celular, principalmente a contaminantes ambientales tales como pesticidas, metales pesados, compuestos que presenten actividad hormonal y a diversos aditivos de los alimentos, como también a algunos componentes naturales de los alimentos.



**Figura 1.** Efectos diferidos de la exposición prenatal a estradiol-17 $\beta$  o dietilstilbestrol en la hipertrofia del epitelio endometrial luminal inducido por estradiol, 24 h después del tratamiento con la hormona durante la edad prepuberal. La exposición prenatal de los fetos se realizó mediante inyección intraamniótica de 750 ng de estradiol-17 $\beta$  (E), dietilstilbestrol (D) o el vehículo (C) durante el día 18 de la gestación. A la edad postnatal de 21 días, los animales fueron estimulados con 0,3 mg estradiol-17 $\beta$  /kg p.c. (e) o el vehículo (c), y los úteros fueron obtenidos 24 h después de dicha estimulación bajo anestesia etérea. Las barras indican los promedios (expresados como % de respuesta a estradiol)  $\pm$  error estándar de la media. Estadística: test de la mínima diferencia

significativa (LSD) a posteriori. \*\*\*\* o + + + +,  $p < 0.0001$ ; \*, comparado con la condición homóloga sin estimulación hormonal; +, comparado con la condición homóloga sin exposición prenatal a los compuestos hormonales.

Los estudios iniciales sobre posibles alteraciones irreversibles por exposición prenatal a agentes inductores de imprinting no lograron detectar en numerosas ocasiones los efectos diferidos. Por ejemplo, no se ha logrado detectar alteraciones diferidas en la acción de los estrógenos en el útero (38) ni en los niveles de receptores estrogénicos (39) como secuela de una exposición prenatal o postnatal temprana a andrógeno. Esto se ha debido a que sólo se investigaron algunas respuestas hormonales en el órgano total, sin considerar la existencia de diferentes tipos celulares que pudieran haber reaccionado de manera diferente, ni que muchas hormonas, entre ellas las esteroidales, presentan múltiples grupos separados de respuestas a la misma hormona, mediadas por mecanismos diferentes e independientes entre sí, en los cuales diferentes clases de receptores hormonales están involucrados (*vide supra*), y que también pueden afectarse en forma separada, disociando las respuestas. Estudios posteriores de los efectos diferidos por exposición perinatal, que han considerado esta posibilidad, han demostrado efectos selectivos en sólo algunos tipos celulares uterinos (40, 41). También los estudios iniciales sobre alteraciones diferidas inducidas por exposición prenatal a hormonas se han preocupado exclusivamente de los órganos blanco clásicos de dichas hormonas. Sólo recientemente se ha comenzado a buscar alteraciones en los demás órganos y sistemas. Así, por ejemplo, se ha demostrado que la exposición prenatal al estrógeno sintético dietilstilbestrol no sólo afecta el tracto genital femenino (36, 38, 42-44) o a respuestas neuroconductuales claramente ligadas a la función sexual (45-49), sino que también se han detectado efectos adversos en órganos o sistemas aparentemente independientes de la función reproductiva (50-54)). Entre ellos, el sistema inmune se ve afectado (ver ref. 37 para una revisión). La exposición prenatal a dietilstilbestrol causa, en humanos, una alteración irreversible en la capacidad de respuesta inmune, una mayor incidencia

de enfermedades autoinmunitarias, de infecciones respiratorias, asma bronquial, artritis y lupus.

Entre los compuestos que afectan en forma irreversible las gónadas o la sexualidad por el mecanismo de la inducción de vías de heterodiferenciación celular, es necesario mencionar los compuestos con actividad hormonal semejante a los esteroides sexuales, la nicotina y otros compuestos derivados del tabaquismo, compuestos orgánicos policlorinados (dioxinas, furanos, policlorobifenilos y otros), plaguicidas, cafeína, diversos aditivos de los alimentos elaborados, plomo, cadmio, dióxido de nitrógeno, etanol y el stress psicológico intenso (37, 50, 54). Los compuestos del tipo de los esteroides sexuales pueden acceder al feto o al niño durante los períodos precoces de su vida a través del consumo de carnes contaminadas con estos compuestos. La nicotina puede acceder al feto a través de la placenta en madres fumadoras durante su embarazo. Los compuestos orgánicos policlorinados pueden acceder a través de la vía respiratoria, por inhalación de aire contaminado, por vía digestiva por consumo de alimentos contaminados, y afectar en forma especial a trabajadores de procesos industriales en cuyos procesos se formen dichos compuestos (industria de la celulosa, cementeras que utilicen combustibles alternativos o petcoke en sus procesos, incineración de residuos tóxicos y hospitalarios e industria de los plásticos) y a quienes residen en las zonas de impacto de dichos procesos. Los plaguicidas pueden acceder al organismo por consumo de frutas y hortalizas contaminadas con ellos, leche y otros alimentos, y en cantidades mucho más altas por exposición laboral directa en el caso de mujeres temporeras que trabajan en la recolección de frutas durante el embarazo, considerando que se procede a la fumigación con plaguicidas sin suspender la recolección de frutas y exponiendo directamente a las trabajadoras a estos tóxicos. La cafeína puede acceder tanto por el consumo del café como de las bebidas cola (que contienen cantidades importantes de cafeína) por las mujeres embarazadas, y también por el consumo de bebidas cola por niños en sus primeros años de vida. Numerosos aditivos de los alimentos no han sido estudiados para evaluar los posibles efectos diferidos, no obstante, en aquellos

que ya se han realizado estudios, se han verificado efectos adversos, como por ejemplo, los nitritos. El plomo procede principalmente del uso de la bencina con plomo y del acceso oral de pinturas domiciliarias descascaradas con alto contenido de dicho metal; también existe la exposición laboral a plomo e inhalación de partículas en habitantes cercanos a fundiciones de baterías de plomo o residentes cercanos a acopios de concentrados de minerales con alto contenido de plomo o de residuos tóxicos vertidos en zonas residenciales (55). El cadmio puede proceder de alimentos con alto contenido de este elemento, aguas contaminadas o por vía inhalatoria como contaminación laboral. El dióxido de nitrógeno es un contaminante del aire que se produce por una combustión a muy alta temperatura, que permite que algunas moléculas de nitrógeno presentes en el aire se oxiden. La exposición prenatal a etanol es causada por consumo de bebidas alcohólicas por la mujer embarazada. El stress psicológico intenso causa alteración en los niveles plasmáticos de diversos compuestos hormonales, los que pueden atravesar la placenta, como por ejemplo los glucocorticoides, y dejar secuelas irreversibles por el mecanismo del imprinting.

### **Efectos diferidos por la exposición perinatal a los contaminantes ambientales más conspicuos, a través del mecanismo del imprinting o reprogramación celular**

#### **1. Contaminación de alimentos cárneos con compuestos hormonales.**

Diversos estrógenos y andrógenos se han usado como promotores de crecimiento en ganadería y avicultura en numerosos países. En muchos países continúa su uso en la actualidad: en Estados Unidos, en donde su uso se encuentra bastante bien regulado, y en muchos países del Tercer Mundo, incluyendo Chile, en donde es insuficiente el control sobre su uso.

Después del descubrimiento del riesgo del uso clínico del dietilstilbestrol en mujeres gestantes y ante la sospecha que el consumo, por ellas, de carne de

animales tratados con dietilstilbestrol también presenta riesgo, su uso fue prohibido en Estados Unidos hacia fines de la década de 1970. En diversos países de Europa se ha prohibido, además del dietilstilbestrol, el uso de cualquier otra hormona en crianza ganadera o avícola. Por el contrario, existe evidencia del amplio y reciente uso del dietilstilbestrol para crianza animal en Chile (56), al menos con anterioridad a 1985.

La contaminación de productos cárneos de consumo humano con niveles altos de hormonas ocasiona respuestas hormonales en la población de consumidores. Algunos de los efectos que se observan más precozmente es la telarquia prematura, cuya presencia se evalúa como crecimiento mamario en niñas entre 6 meses y 3 años de edad y que ocurre también en el sexo masculino (ginecomastia). El caso más conocido fue la epidemia de telarquia prematura en Puerto Rico causada por consumo de carne de pollo contaminada con muy altos niveles de estrógenos (57). Las hormonas que se administran a los vacunos son implantadas en sus orejas; en Estados Unidos existe legislación y fiscalización respecto de la cantidad de implantes y del tiempo de espera post-implante que debe transcurrir antes del sacrificio de los animales para consumo humano. En Chile no existe un control adecuado al respecto, de tal manera que un vacuno puede ser sacrificado a los pocos días después de implantado con hormonas. Se ha informado de la existencia de hasta 7 implantes por oreja de vacuno, del hallazgo de un implante ubicado dentro de un músculo (porción comestible), y del destino de las orejas con los implantes para fabricación de cecinas (58), de tal manera que estas últimas pueden contener altos niveles de hormonas. Como resultado de la exposición de los consumidores de productos cárneos a hormonas exógenas, se ha detectado en Chile una epidemia de telarquia prematura, que afectó el 14.1% del total de niñas sanas examinadas (59).

El efecto de la exposición prenatal a dietilstilbestrol sobre la generación de adenocarcinomas cervicovaginales en la mujer joven es bien conocido, como también la generación de tumores equivalentes en animales de experimentación (31, 32). En estos últimos, la exposición prenatal a dietilstilbestrol, alilestrenol, estradiol-17 $\beta$  o benzoato de estradiol induce además cambios

persistentes en la actividad de las hormonas esteroidales (36, 38, 60, 61), en la cantidad de receptores de estrógeno en el útero (36, 38) y alteraciones histológicas en el tracto genital femenino (31), desarrollo de quistes paraováricos (62) e infertilidad (63). En el ser humano se han descrito, por efecto de la exposición prenatal a dietilstilbestrol, alteraciones histológicas del tracto genital (64), desarrollo de quistes paraováricos (62), endometriosis (43), aumento de la incidencia de abortos (65) e infertilidad (43).

La exposición perinatal de animales de experimentación a altos niveles de andrógeno produce un desarrollo anormal de los genitales fetales, altera la ovulación y la formación del cuerpo lúteo, causa el desarrollo de ovarios poliquísticos, modifica diversos parámetros de la fisiología uterina, incluyendo una respuesta uterina anormal a la acción hormonal y causa esterilidad (66). En nuestro Laboratorio, hemos demostrado que la exposición prenatal a andrógeno causa una inhibición irreversible de algunas respuestas estrogénicas (hipertrofia de los epitelios luminal y glandular uterinos) y en cambio potencia otras respuestas (eosinofilia uterina y edema endometrial), mientras que no modifica las demás respuestas (hipertrofia miometrial) (40). Hemos demostrado también que la exposición postnatal a andrógeno modifica de manera diferente las respuestas estrogénicas en el útero, inhibiendo en forma selectiva la hipertrofia miometrial y causando una respuesta hipertrófica más rápida que lo normal en los epitelios luminal y glandular uterinos (41).

La exposición prenatal o perinatal a esteroides sexuales también produce cambios irreversibles en el metabolismo de la testosterona en el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal de ratas macho (67). La exposición neonatal a estrógenos determina alteraciones en el desarrollo y cambios estructurales y funcionales en el testículo, próstata y vesículas seminales (68, 69). El sistema inmune también se ve afectado. La exposición prenatal a dietilstilbestrol causa, en la especie humana, una alteración irreversible en la capacidad de respuesta inmune y una mayor incidencia de enfermedades autoinmunitarias (ver ref. 37 para una revisión).

La exposición prenatal a esteroides sexuales afecta también en forma irreversible al sistema nervioso central. Causa en él cambios bioquímicos (70) y alteraciones

neuroconductuales. La exposición prenatal a niveles muy bajos de progestágenos sintéticos determina, para toda la vida, cambios irreversibles en la personalidad, determinando una personalidad más independiente, más individualista y autosuficiente y menos preocupada del entorno social que rodea al individuo afectado (71). Una exposición prenatal a niveles ligeramente más altos de dietilstilbestrol u otras hormonas sexuales determina alteraciones que persisten durante toda la vida en la conducta sexual dimórfica, en las diferencias temperamentales ligadas a sexo y en las orientaciones sexuales en seres humanos (45-49), como también cambios en la conducta de juegos infantiles ligada a sexo (48) y una disminución de las manifestaciones del instinto maternal en mujeres adultas (49). Por último, se ha descrito que en criminales con historia de extrema violencia o de violaciones sexuales, presentan niveles plasmáticos de andrógenos exageradamente elevados (46). Es posible que una exposición prenatal a hormonas sexuales contribuya a aumentar el nivel de andrógenos en la sangre, en forma similar como se ha demostrado que ocurre para los estrógenos plasmáticos en mujeres expuestas perinatalmente a esteroides sexuales exógenos (57, 59).

## **2. Tabaquismo: nicotina y otros compuestos.**

En la rata, la exposición prenatal a nicotina causa diversas alteraciones en el sistema nervioso central y en sus funciones, en el miocardio, riñón y el aparato reproductor masculino (ver ref. 37 para una revisión). Entre estas alteraciones, son conspicuos los cambios en la conducta sexual de machos expuestos prenatalmente, en los cuales aumenta el período de latencia antes de ocurrir los cambios fisiológicos que acompañan al acto sexual, y disminuye la eficiencia de la copulación (72). Estas alteraciones, que guardan alguna semejanza con la impotencia masculina de la especie humana, pueden ser explicadas por una disminución de niveles de testosterona plasmática observadas en ratas adultas expuestas prenatalmente, debido a la disminución de la biosíntesis de la hormona en el testículo (72). No existen estudios para la especie humana si la exposición prenatal a nicotina, o a tabaquismo materno, es un factor predisponente para el desarrollo de la disfunción eréctil humana, pero existe abundante evidencia que

el tabaquismo crónico es un factor de riesgo para el desarrollo de la impotencia sexual masculina (73-75). En este contexto, se ha demostrado en el conejo que el tabaquismo pasivo inhibe la relajación neurogénica y dependiente de endotelio de las fibras musculares lisas del cuerpo cavernoso (76), lo cual demuestra el efecto adverso del tabaquismo causado no sólo en los fumadores, sino que también a quienes están expuestos en forma pasiva a humo de tabaco.

En la especie humana, la exposición prenatal a tabaquismo materno causa otras alteraciones en el aparato reproductor masculino. Se ha reportado una asociación entre tabaquismo materno e incidencia en cáncer testicular en hijos prenatalmente expuestos (77). Se ha encontrado una asociación entre la exposición fetal a tabaquismo materno y reducción de calidad del semen y una reducción del tamaño testicular durante la edad adulta en un estudio realizado en 1770 adultos jóvenes europeos (78). Estos hechos al parecer están relacionados con la disminución de niveles de testosterona y cambios en la conducta sexual demostrados en animales de laboratorio (72).

En ratas hembra, pero no en machos, la exposición prenatal a nicotina aumenta niveles de testosterona plasmática durante la edad adolescente (79). En la especie humana, la exposición in útero a tabaquismo materno causa un adelanto de la edad de la menarquia en hijas de madres expuestas durante el embarazo (80).

## **3. Compuestos orgánicos policlorinados (dioxinas, furanos, policlorobifenilos y otros).**

En animales de laboratorio se ha demostrado que la exposición a policlorobifenilos (PCB) produce cambios persistentes de la conducta en ratas (81) y una disminución de la fertilidad en ratones *Peromyscus polionotus* (82). En seres humanos, la exposición prenatal a policlorobifenilos causa un retraso del desarrollo cognitivo (83) y alteraciones en el desarrollo de las uñas (84).

En animales de laboratorio, la exposición a 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) causa atrofia del

timo y supresión de la respuesta inmune (85), debida a una alteración de las vías de diferenciación de células troncales linfocitarias (85); causa también una disminución de espermios eyaculados o en el epidídimo, una disminución de peso de las glándulas sexuales accesorias en el macho, una demasculinización y feminización morfológica y conductual y una disminución de la fertilidad, manteniéndose los niveles de testosterona y los receptores de andrógeno dentro de límites normales (86). Causa una inhibición del desarrollo de los genitales masculinos y una disminución del peso del complejo urogenital (87) y una disminución del peso de la próstata ventral, de las glándulas urogenitales, del epidídimo y de los testículos, y del largo del pene y una disminución del mRNA de receptor de andrógeno (88). Otro estudio ha demostrado una inhibición del desarrollo del epitelio de las vesículas seminales (89) y del epitelio prostático (90). También se ha descrito un atraso de la pubertad en machos, y una disminución en el recuento de espermios en el epidídimo (91).

Estudios epidemiológicos realizados en Holanda que han medido niveles de dioxinas y PCB en sangre materna (o de cordón umbilical) y leche materna y ha realizado un análisis conductual de los hijos a la edad de 7 a 8 años, ha demostrado que la exposición prenatal y perinatal a dioxinas y/o PCB alteran las características de juego infantil ligado a sexo (92): La exposición prenatal a PCB determina que el juego se hace más femenino en niños varones, y en las niñas se hace más masculino. La exposición prenatal a dioxinas determina un juego más femenino en niños varones, y en niñas un juego de características aún más femeninas (92). Otro estudio ha demostrado, en humanos, que la exposición prenatal a PCB y dibenzofuranos determina, en la edad adulta joven, alteraciones persistentes en la calidad de los espermios e inhibe su capacidad de penetrar oocitos de hamster (93).

La exposición prenatal a dioxinas y dibenzofuranos causa, en ratas hembra, disrupción de los ciclos estrales, inhibición de la ovulación, y bajos niveles de estrógenos después de estimulación con gonadotropina coriónica (94), e inhibe irreversiblemente el desarrollo de las glándulas mamarias (95). Además aumenta la sensibilidad a los estrógenos para el desarrollo de cáncer de mama (96).

#### 4. Plaguicidas.

El p,p'-DDT presenta propiedades estrogénicas (97, 98), pero no hay información sobre el efecto de la exposición prenatal a este plaguicida. Sin embargo, su metabolito p,p'-DDE es un potente antagonista androgénico que se liga a receptores de andrógenos (99) y se ha sugerido que la exposición prenatal a DDE causa anomalías en el desarrollo sexual masculino (99), atribuyéndose a éste metabolito la disminución del recuento de espermios en Dinamarca y la disminución del tamaño peneano en caimanes en Lago Apopka, Florida (100).

La exposición perinatal a metoxiclor causa en hembras un aumento de folículos atrésicos y una apertura vaginal precoz (101), y suprime el reflejo de la lordosis y el pico del LH preovulatorio (102). La exposición perinatal a clordecona causa masculinización (103). La exposición perinatal al piretroide cialotrina causa un atraso en el descenso testicular en animales de experimentación (104).

#### 5. Cafeína.

La cafeína es uno de los principios activos del café, bebida que además de dicha sustancia contiene compuestos estrogénicos (105), que pueden inducir vías de heterodiferenciación. La cafeína también se usa como aditivo en diversas bebidas de fantasía del tipo cola, y en muchos países no se entrega la información (o recientemente no se entregaba) sobre esto, de tal manera que numerosas mujeres embarazadas y también niños durante los primeros años de su vida se ven expuestos a cafeína.

Se ha determinado, en animales de experimentación, que la exposición prenatal a dosis bajas de cafeína (0,23 mg/mL en agua de bebida, dosis diaria de 28 mg/kg) determina un aumento de la actividad y una disminución de la emotividad durante la edad adulta (106). La exposición de ratas preñadas a cafeína (30 mg/kg/día) inhiben los fetos la diferenciación del tejido intersticial testicular y de las células de Leydig y reduce la biosíntesis de testosterona por el testículo fetal (107), lo cual a su vez puede inducir vías de heterodiferenciación celular en

diversos órganos y tejidos y afectar en forma irreversible las gónadas masculinas y la conducta sexual.

## 6. Otros aditivos de los alimentos elaborados.

Además de la cafeína, existen un gran número de aditivos que se usan en la preparación de los alimentos elaborados. Entre ellos, colorantes, edulcorantes, saborizantes, preservantes y otros, para mejorar sus propiedades organolépticas. Para diversos aditivos que se usan en forma libre en nuestro país y en otros países del Tercer Mundo, existe prohibición en Estados Unidos, Japón y diversos países de Europa. Algunos de ellos se han prohibido en muchos países por considerárseles con propiedades cancerígenas (por ejemplo, el amaranto). Otros, como los nitritos o antibióticos tales como tetraciclinas, utilizados en algunos países como preservantes de alimentos elaborados, causan diversos efectos diferidos por el mecanismo del imprinting, pero no serán analizados en el presente trabajo porque no se les ha reportado efectos reproductivos o relacionados con la sexualidad (37). Sin embargo, la mayoría de los aditivos utilizados en la industria de los alimentos no ha sido evaluada para los posibles riesgos para la salud por exposición perinatal.

## 7. Plomo.

Las fuentes más importantes para la contaminación con plomo son: los combustibles a los cuales se ha adicionado tetraetilplomo o tetrametilplomo por sus propiedades antidetonantes, para aumentar su octanaje; las pinturas con alto contenido de plomo que al desprenderse se transforman en polvo habitacional que es ingerido por niños, polvo de ciudades; actividades industriales o artesanales que involucran fundición de componentes que contienen plomo y que contaminan a residentes de zonas cercanas a dicha actividad - por ejemplo empresas recuperadoras de plomo a partir de baterías para automóviles que con frecuencia son clandestinas o no autorizadas; acopio de minerales con contenido de plomo o de desechos tóxicos que contengan este elemento, en zonas urbanas, ingestión de alimentos con alto contenido de plomo (hortalizas cultivadas en zonas contaminadas), los alimentos enlatados en envases con soldadura de plomo, y redes

de agua potable que contengan tuberías de plomo, que existen en edificios antiguos. La contaminación laboral con plomo ocurre en faenas mineras, en la confección de productos con contenido de plomo, en personas que trabajen con pinturas, con soldaduras, en la confección de baterías de automóviles y antiguamente, en las imprentas por el trabajo continuo con tipos confeccionados con plomo (55).

La exposición a plomo afecta al sistema reproductor, además de afectar otros órganos y sistemas. Exposiciones agudas o crónicas a plomo alteran, en forma precoz o retardada, diversas respuestas estrogénicas en el útero de rata (18, 30), lo cual explica los efectos reproductivos que produce la exposición a este elemento en animales de experimentación y en seres humanos (ver 55 para una revisión). La exposición perinatal a plomo también causa efectos diferidos irreversibles por el mecanismo del imprinting, y que pueden ser detectados más tardes en la vida. En ratas adultas de sexo femenino expuestas perinatalmente a plomo, la concentración y características de los receptores de estrógeno en el útero son diferentes que en los animales no expuestos (108). También se han detectado alteraciones irreversibles en los receptores de gonadotropinas en el ovario y en la esteroidogénesis causados por la exposición perinatal (109). Estas alteraciones explican, por lo menos en parte, la depresión de la fertilidad que se produce por efecto de la exposición perinatal a plomo en animales de laboratorio (110, 111) y en seres humanos (112-114). También apoyan la hipótesis de la decadencia del Imperio Romano debida al aumento de la infertilidad en la clase gobernante romana que, se ha propuesto, se debió a una intoxicación masiva con plomo debido al consumo de vinos almacenados en vasijas de este metal (115).

En la rata, la exposición prenatal a plomo produce un aumento irreversible en la afinidad de receptores  $\delta$  opiáceos cerebrales (116), sin modificar los receptores  $\mu$  opiáceos, lo cual se correlaciona con la inhibición de la respuesta antinociceptiva opiácea a stress que no afecta a la respuesta no opiácea a stress (117). No se ha demostrado si estas alteraciones ocurren también en el ser humano, pero de existir, pueden explicar los cambios neuroconductuales que ocurren en la población

humana expuesta a plomo (118-120), y probablemente, explican en parte el aumento de la incidencia de la adicción a drogas opiáceas y otras drogas de abuso en ambientes con alta contaminación con plomo (37). El hallazgo de la potenciación de respuestas de dopamina y ácido 5-hidroxi-indol-acético a la anfetamina en animales expuestos a plomo (121) sugiere que la respuesta a otras drogas de abuso usadas como estimulantes puede estar también incrementada.

En animales experimentales, la exposición a plomo daña el aprendizaje (122). En el ser humano, causa déficit en el funcionamiento del sistema nervioso central que persiste hasta la edad adulta. Estos incluyen déficit del aprendizaje, en los test de inteligencia, disminución del rendimiento escolar, aumento de fracasos escolares, dificultades en la lectura y una disminución de la coordinación visual-motora (112-114). De acuerdo a un informe publicado por el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos, ya se produce en niños una disminución del coeficiente intelectual con alrededor de 9 µg de plomo por 100 dL de sangre (123), lo cual es importante comparar con información de la Región Metropolitana (Santiago, Chile) de acuerdo a los cuales el 14,2% de los niños de la Región Metropolitana (Santiago, Chile) de 18 meses de edad ya tenía un nivel de plomo en la sangre superior o igual a 10 µg/dL y que era probable que los niveles de plomo en la sangre se eleven aún más hacia los 5 años de edad (ver 55 para una revisión). Es posible que la fijación de vías de heterodiferenciación en el sistema nervioso central esté involucrada en estas alteraciones causadas por plomo.

## 8. Cadmio.

Guardando cierta semejanza con el plomo, la exposición a cadmio también deja secuelas reproductivas en ambos sexos, lo cual sugiere que también pueda inducir el mecanismo del imprinting. En el sexo masculino, además del cáncer prostático, bastante bien demostrado en el animal de laboratorio pero todavía no hay antecedentes suficientes humanos (124, 125), el cadmio causa daño testicular en animales de experimentación (126), reduce su peso y el de las vesículas seminales,

afecta la movilidad de los espermios, inhibe la colinacetyltransferasa espermática y reduce niveles de testosterona en el suero (127). En la especie humana, la exposición a cadmio causa infertilidad y afecta la espermatogénesis (128).

En el sexo femenino, en el hamster el cadmio inhibe la ovulación y produce esterilidad (129); en la rata produce cambios patológicos en útero (130), ovarios (131) y placenta (132). En la especie humana, afecta la actividad miométrial del útero en ausencia de embarazo (133), altera el ciclo menstrual, causa dismenorrea, esterilidad, abortos espontáneos, mortinatos (134), daño a la placenta (135), y aumenta el nivel de testosterona en suero (136).

Se ha sugerido que el cadmio activa receptores citosólico-nucleares de estrógeno (137) y reproduce en útero y glándula mamaria los efectos de los estrógenos en estos órganos (138). El bloqueo de la expresión genética en células tumorales mamarias MCF7 con antiestrógenos o con melatonina sugiere que esta es mediada por activación de receptores estrogénicos alfa (139), aún cuando pueden haber otras explicaciones a dicha estimulación, como un “up-regulation” de dichos receptores por un mecanismo indirecto. Se ha sugerido que el cadmio interactúa con grupos SH del sitio activo del receptor (sitio de unión a la hormona) (140). No todos los receptores estrogénicos tienen grupos SH en su sitio activo. A diferencia de los citosólico-nucleares que son bloqueados con reactivos de grupos SH, los receptores estrogénicos de membrana de los eosinófilos no lo son (6, 141), por lo cual es posible esperar una disociación entre las diversas respuestas estrogénicas bajo el efecto de exposición aguda a cadmio.

La interacción del cadmio con receptores de hormonas sexuales y con diversos efectos reproductivos descritos más arriba permiten suponer que la exposición perinatal a cadmio pueda generar efectos diferidos por el mecanismo del imprinting. Algunos estudios demostraron que la exposición de ratas preñadas a cadmio indujo un adelanto en la pubertad en las crías expuestas prenatalmente,

efectos diferidos en glándulas mamarias (138), y alteraciones neurológicas y conductuales a la edad de 2 meses (142). Trabajos en curso en nuestro Laboratorio tienen por objetivo investigar más en detalle la posibilidad de la inducción, a través del mecanismo del imprinting, de cambios irreversibles en útero de rata por exposición prenatal a cadmio.

## 9. Dióxido de nitrógeno.

La exposición de ratas preñadas (desde el día 7 de la gestación hasta el parto) a gases de combustión de motores Diesel que contenían 1,71 mg/m<sup>3</sup> de material particulado y 0,80 ppm de dióxido de nitrógeno (la dosis más alta) o 0,17 mg/m<sup>3</sup> de material particulado y 0,10 ppm de dióxido de nitrógeno (dosis más baja), o la exposición a gases de combustión filtrados sin material particulado, y que contenían 0,80 (dosis más alta) o 0,10 (dosis más baja) ppm de dióxido de nitrógeno determina, en las crías de sexo masculino a los 96 días de edad postnatal, una disminución en la producción diaria de esperma debido a un número insuficiente de células de Sertoli (143). En este experimento, la relación entre espermátidas / número de células de Sertoli y los niveles de hormona foliculoestimulante en el grupo expuesto era significativamente más alta. La similitud entre los grupos con filtro y sin filtro sugiere que es la fase gaseosa y no el material particulado la que causa el efecto diferido de la exposición prenatal.

## 10. Etanol.

La exposición prenatal a etanol puede provocar cambios irreversibles mediante el mecanismo del imprinting, a través de dos mecanismos diferentes: directo e indirecto. El mecanismo directo involucra alteraciones en el programa de las células a consecuencia de la exposición directa de células fetales a etanol. El mecanismo indirecto implica un aumento de niveles plasmáticos maternos de estradiol (144), hormonas tiroideas (145) y glucocorticoides (146) por efecto de la exposición materna a etanol; estas hormonas pueden atravesar la barrera placentaria y afectar tejidos fetales mediante el mecanismo del imprinting, siendo la raíz del desarrollo

de diversas enfermedades más tarde en la vida (37, 54).

Se han descrito que la exposición prenatal a etanol causa en animales de experimentación diversos efectos diferidos sobre el sistema reproductor masculino y femenino. Se ha descrito una alteración en la conducta dimórfica sexual (147), una disminución de la sensibilidad a la retroalimentación negativa por testosterona (148), aumento de niveles de testosterona fetal (149), una disminución persistente del peso testicular, una alteración morfológica de los túbulos seminíferos y una inhibición de la espermatogénesis que implica una reducción de la fertilidad masculina (150). En contraposición al efecto de la exposición prenatal a etanol en ratas no estresadas, en las que en las que se produce un aumento de niveles de testosterona prenatal (151) sin inhibición posterior de la actividad copulatoria durante la edad adulta (152), el efecto de la combinación de etanol y stress prenatales determina un bloqueo total del alza de testosterona prenatal (151) y posteriormente una falla severa de la conducta copulatoria (152). El stress prenatal en ausencia de exposición a etanol sólo determina la atenuación del aumento de testosterona prenatal y una falla parcial en la actividad copulatoria. La exposición prenatal a etanol determina una disminución del incremento de testosterona postnatal (153), que al parecer no modifican la actividad copulatoria normal durante la edad adulta (154).

En ratas preñadas expuestas a etanol con una alcoholemia equivalente a la que se produce en seres humanos después de un consumo bajo o moderado de etanol (dosis que no causan síndrome alcohólico fetal), se ha descrito un aumento de niveles plasmáticos de estradiol (144). Las crías de estos animales, una vez adultas, desarrollan más tumores mamarios inducidos por 7,12-dimetilbenz(a)antraceno que los controles, las ramificaciones de los conductos glandulares eran más densas, contenían más estructuras susceptibles a la iniciación del cáncer mamario, y contenían niveles elevados de receptor alfa de estradiol (144), lo cual sugería una posible relación etiológica con la tumorigénesis mamaria.

En forma adicional, en hembras adultas prenatalmente expuestas a etanol se ha detectado disrupción de sus ciclos estrales (149) y atraso en la pubertad (155). Una explicación de esta alteración podría encontrarse en el alza de estrógenos maternos inducida por etanol (144). El atraso en la pubertad puede ser explicado por la alteración de la secreción de gonadotropinas en las crías durante su edad infantil; un atraso en la secreción de FSH en hembras puede desempeñar un papel causal en el retraso de la pubertad en ratas prenatalmente expuestas a etanol (155).

## 11. Stress prenatal.

Se ha demostrado en ratas que la exposición al stress materno durante la vida fetal causa alteraciones irreversibles de la analgesia inducida por morfina o stress (156). Se ha propuesto que esto se debe a la disminución persistente de receptores  $\mu$ -opiáceos en el striatum pero no en otras regiones encefálicas de ratas adultas expuestas prenatalmente (157). Se ha demostrado también que el stress prenatal afecta la conducta sexual adulta, tanto en animales de experimentación como en la especie humana. En ratas, feminiza y demasculiniza la conducta masculina (158). En la especie humana, puede ser causa del desarrollo de homosexualidad en hombres que han sido expuestos prenatalmente a stress materno (159). Estos efectos pueden deberse a la hipersecreción de diversas hormonas maternas por efecto del stress. Estas a su vez producen las alteraciones de la conducta sexual por el mecanismo de la fijación de vías de heterodiferenciación celular.

## PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES

En base a los datos presentados más arriba, queda claro que la exposición prenatal o postnatal precoz a diversos contaminantes ambientales, incluyendo aquellos que se encuentran en los alimentos, causa cambios irreversibles que determinarán el estado de salud de las personas durante la edad adulta y la senectud. Muchas de las enfermedades que ocurren en estas edades han sido determinadas

durante los períodos precoces de la vida, por efecto de contaminantes ambientales o aún por presencia de compuestos activos en las dietas favoritas de sus madres durante el embarazo. Es posible prever, por lo tanto, que cuando se conozcan todos los efectos diferidos de los diversos contaminantes ambientales y demás sustancias químicas a que están expuestos los individuos durante su vida prenatal o neonatal, se habrá logrado una notable mejoría de las condiciones de salud de toda la humanidad.

En base a datos históricos, se ha propuesto que la decadencia y el fin del Imperio Romano tuvo su origen en una contaminación por plomo que afectó a su clase gobernante, lo que provocó infertilidad (115), alteraciones mentales y probablemente, aumentó la incidencia de homosexualismo y de adicción a drogas de abuso (37, 50, 54, 115). De igual manera, es posible que algunas de las alteraciones neuroconductuales de nuestra sociedad, excesivo individualismo y despreocupación por el entorno social que nos rodea, incremento de prevalencia del homosexualismo, aumento de patologías funcionales sexuales (ejemplo, disfunción eréctil), y el dramático aumento de patologías sociales como la drogadicción y la delincuencia, tengan como una de las causas predisponentes la exposición perinatal a contaminantes ambientales, lo que no ha sido tomado en cuenta con la suficiente atención. Allí reside la importancia de tomar en consideración estos nuevos hallazgos, lo que permitirá lograr mejores condiciones de salud para las futuras generaciones.

Se concluye que la exposición perinatal a diversos agentes causa cambios que determinan las condiciones de salud durante la edad adulta, incluyendo salud sexual y reproductiva. Diversas enfermedades probablemente ya han sido determinadas bajo el efecto de exposiciones perinatales, incluyendo la dieta preferencial materna durante el embarazo. Regulaciones para evitar estas exposiciones y medidas administrativas de protección contribuirán a una mejoría importante de las condiciones de salud de la humanidad.

## Referencias

1. Jensen EV, DeSombre ER (1972). Mechanism of action of the female sex hormones. *Annu Rev Biochem* 41: 203-230
2. Tchernitchin A (1967). Autoradiographic study of (6,7)-3H oestradiol-17 $\beta$  incorporation into rat uterus. *Steroids* 10: 661-668
3. Tchernitchin A (1972). Radioautographic study of the effect of estradiol-17 $\beta$ , estrone, estriol, progesterone, testosterone and corticosterone on the *in vitro* uptake of 2,4,6,7-3H estradiol-17 $\beta$  by uterine eosinophils of the rat. *Steroids* 19: 575-586
4. Tchernitchin A, Tchernitchin X, Robel P, Baulieu EE (1975). Liaison de l'oestradiol dans les leucocytes polinucléaires éosinophiles humains. *C R Acad Sci Paris* 280 (Serie D): 1477-1480
5. Tchernitchin A, Tchernitchin X (1976) Characterization of the estrogen receptors in the uterine and blood eosinophil leukocytes. *Experientia* 32: 1240-1242
6. Tchernitchin AN, Mena MA, Rodríguez A, Maturana M (1985). Radioautographic localization of estrogen receptors in the rat uterus: a tool for the study of classical and nontraditional mechanisms of hormone action. In: *Localization of Putative Steroid Receptors, Vol. 1, Experimental Systems*, Pertschuk LP, Lee SH, Eds. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A., pp. 5-37
7. Tchernitchin AN, Mena MA, Soto J, Unda C (1989). The role of eosinophils in the action of estrogens and other hormones. *Med Sci Res* 17: 5-10
8. Tchernitchin A (1973). Fine structure of rat uterine eosinophils and the possible role of eosinophils in the mechanism of estrogen action. *J Steroid Biochem* 4: 277-282
9. Tchernitchin A, Roorijck J, Tchernitchin X, Vandenhende J, Galand P (1974). Dramatic early increase in uterine eosinophils after oestrogen administration. *Nature* 248: 142-143
10. Tchernitchin A, Tchernitchin X, Galand P (1976). New concepts on the action of oestrogens in the uterus and the role of the eosinophil receptor system. *Differentiation* 5: 145-150
11. Tchernitchin A (1979). The role of eosinophil receptors in the non-genomic response to oestrogens in the uterus. *J Steroid Biochem* 11: 417-424
12. Tchernitchin AN, Galand P (1982). Dissociation of separate mechanisms of estrogen action by actinomycin D. *Experientia* 38: 511-513
13. Tchernitchin AN (1983). Eosinophil-mediated non-genomic parameters of estrogen stimulation: A separate group of responses mediated by an independent mechanism. *J Steroid Biochem* 19: 95-100
14. Galand P, Tchernitchin N, Tchernitchin AN (1985). Dissociation of uterine eosinophilia and water imbibition from other estrogen-induced responses by nafoxidine pretreatment. *Mol Cell Endocrinol* 42: 227-233
15. Tchernitchin AN, Barrera J, Arroyo P, Mena MA, Vilches K, Grunert G (1985). Degranulatory action of estradiol on blood eosinophil leukocytes *in vivo* and *in vitro*. *Agents Actions* 17: 60-66
16. Tchernitchin AN, Galand P (1983). Oestrogen levels in the blood, not in the uterus, determine uterine eosinophilia and oedema. *J Endocrinol* 99: 123-130
17. Unda C, Baeza CI, Arriagada R, Castrillón MA, Tchernitchin AN (1999) Bromocriptine modifies responses to estrogen in the rat uterus. *Med Sci Res* 27: 319-323
18. Tchernitchin NN, Clavero A, Mena MA, Unda C, Villagra R, Cumsille M, Tchernitchin AN (2003) Effect of chronic exposure to lead on estrogen action in the prepubertal rat uterus. *Environ Toxicol* 18: 268-277
19. Clark JH, Peck EJ Jr (1979) Female sex steroids – receptors and function. In: *Monographs on endocrinology, Vol 14*, Springer-Verlag, Berlin, pp 1-245
20. Markaverich BM, Williams M, Upchurch S, Clark JH (1981). Heterogeneity of nuclear estrogen binding sites in the rat uterus: a simple method for the quantitation of type I and type II sites by 3H estradiol exchange. *Endocrinology* 109: 62-69
21. Murphy LC, Sutherland RL (1981). A high-affinity binding site for the antioestrogens, tamoxifen and CI 628, in the immature rat uterine cytosol which is distinct from the oestrogen receptor. *J Endocrinol* 91: 155-161
22. Nenci I, Fabris G, Marzola A, Marchetti E (1981) The plasma membrane as an additional level of steroid-cell interaction. *J steroid Biochem* 15: 231-234
23. Peach K, Webb P, Kuiper GJM, Nilsson S, Gustafsson J, Kushner PJ, Scanlan TS (1997). Differential ligand activation of estrogen receptors ER $\alpha$  and ER $\beta$  at AP1 sites. *Science* 277: 1508-1510
24. Tchernitchin A, Tchernitchin X, Galand P (1975). Correlation of estrogen-induced uterine eosinophilia with other parameters of estrogen stimulation, produced with estradiol-17 $\beta$  and estriol. *Experientia* 31: 993-994
25. Grunert G, Porcia M, Tchernitchin AN (1986). Differential potency of oestradiol-17 $\beta$  and diethylstilboestrol on separate groups of responses in the rat uterus. *J Endocrinol* 110: 103-114

26. Grunert G, Neumann G, Porcia M, Tchernitchin AN (1987). The estrogenic responses to clomiphene in the different cell-types of the rat uterus: Morphometrical evaluation. *Biol Reprod* 37: 527-538
27. Galand P, Tchernitchin N, Tchernitchin AN (1984). Time-course of the effects of nafoxidine and oestradiol on separate groups of responses in the uterus of the immature rat. *J Steroid Biochem* 21: 43-47
28. Baumann P, Tchernitchin AN, Grunert G, Ball P (1986). Effect of various doses of catecholestrogens on uterine eosinophilia in the immature rat. *Experientia* 42: 165-167
29. Bustos S, Soto J, Tchernitchin AN (1996). Estrogenic activity of p,p'-DDT. *Environ Toxicol Water Qual* 11: 265-271
30. Tchernitchin NN, Villagra A, Tchernitchin AN (1998). Antiestrogenic activity of lead. *Environ Toxicol Water Qual* 13: 43-53
31. Herbst AL. (1981) Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer* 48: 484-488
32. Newbold RR, McLachlan JA. (1982) Vaginal adenosis and adenocarcinoma in mice exposed prenatally or neonatally to diethylstilbestrol. *Cancer Res* 42, 2003-2011
33. Csaba G, Nagy SU. (1976) Plasticity of hormone receptors and possibility of their deformation in neonatal age. *Experientia* 32: 651-652
34. Csaba G. (1980) Phylogeny and ontogeny of hormone receptors: the selection theory of receptor formation and hormonal imprinting. *Biol Rev* 55: 47-63
35. Dobozy O, Csaba G, Hetényi G, Shahin M (1985) Investigation of gonadotropin thyrotropin overlapping and hormonal imprinting in the rat testis. *Acta Physiol Hung* 66: 169-175
36. Csaba G, Inczeffi-Gonda A, Dobozy O (1986) Hormonal imprinting by steroids: a single neonatal treatment with diethylstilbestrol or allylestrenol gives a rise to a lasting decrease in the number of rat uterine receptors. *Acta Physiol Hung* 67: 207-212
37. Tchernitchin AN, Tchernitchin N (1992) Imprinting of paths of heterodifferentiation by prenatal or neonatal exposure to hormones, pharmaceuticals, pollutants and other agents or conditions. *Med Sci Res* 20: 391-397.
38. Gellert RJ, Lewis J, Pétra PH (1977) Neonatal treatment with sex steroids: relationship between the uterotrophic response and the estrogen receptor in prepubertal rats. *Endocrinology* 100: 520-528
39. Campbell PS, Modlin PS (1987) Uterine glucose metabolism in the prepubertal rat treated neonatally with androgen, estrogen and antihormones. *Experientia* 43: 309-310
40. Arriaza CA, Mena MA, Tchernitchin AN (1989) Prenatal androgenization selectively modifies some responses to oestrogen in the prepubertal rat uterus. *J Endocrinol* 120: 379-384
41. Mena MA, Arriaza CA, Tchernitchin AN (1992). Early androgenization imprints selective changes in the action of estrogens in the rat uterus. *Biol Reprod*, 46: 1080-1085
42. Stillman RJ, Miller LC (1984). Diethylstilbestrol exposure in utero and endometriosis in infertile females. *Fertil Steril*, 41: 369-372
43. Menczer J, Dulitzky M, Ben-Baruch G, Modan M (1986). Primary infertility in women exposed to diethylstilboestrol in utero. *Br J Obstet Gynaecol*, 93: 503-507
44. Berger MJ, Alper MM (1986). Intractable primary infertility in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *J Reprod Med*, 31: 231-235
45. Ehrhardt AA, Mayer-Bahlburg HFL (1981). Effects of prenatal hormones on gender-related behavior. *Science*, 211: 1312-1318
46. Rubin, RT, Reinish JM, Haskett RF (1981). Postnatal gonadal steroid effects on human behavior. *Science*, 211, 1318-1324
47. Reinish JM, Sanders SA (1984). Prenatal gonadal steroidal influences on gender-related behavior. *Rec Prog Brain Res*, 61, 407-416
48. Meyer-Bahlburg HF, Feldman JF, Cohen P, Ehrhardt AA (1988). Perinatal factors in the development of gender-related play behavior: sex hormones versus pregnancy complications. *Psychiatry*, 51: 260-271
49. Ehrhardt AA, Meyer-Bahlburg HF, Rosen LR, Feldman JF, Veridiano NP, Elkin EJ, McEwen BS (1989). The development of gender-related behavior in females following prenatal exposure to diethylstilbestrol (DES). *Horm Behav*, 23: 526-541
50. Tchernitchin AN, Tchernitchin NN, Mena MA, Unda C, Soto J (1999). Imprinting: Perinatal exposures cause the development of diseases during the adult age. *Acta Biol Hung* 50: 425-440
51. Tchernitchin AN, Tchernitchin NN (1999). Perinatal exposure to substances present in plants and other compounds causes the development of diseases during the adult age, by the mechanism of imprinting. *Acta Hort* 501: 19-29
52. Tchernitchin AN, Lapin N (2005). Exposición perinatal a compuestos orgánicos persistentes. Efectos diferidos. *Cuad Méd Soc (Chile)* 45: 37-42
53. Tchernitchin AN (2005). Efectos de la exposición prenatal a tabaco. *Cuad Méd Soc (Chile)* 45: 191-198
54. Tchernitchin AN (2005). Perinatal exposure to chemical agents: delayed effects by the mechanism of imprinting

- (cell programming). *ARBS Ann Rev Biomed Sci* 7: 68-126
55. Tchernitchin AN, Lapin N, Molina L, Molina G, Tchernitchin NA, Acevedo C, Alonso P (2005). Human exposure to lead in Chile. *Rev Environ Contam Toxicol* 185: 93-139
  56. Montes L, Tamayo R, Gesche E, Pinto M, Castro R, Schoebitz R, Cristi R, Aranda X, Sáez L, Dolz H, Silva R (1985). Informe final proyecto determinación de residuos de pesticidas y antibióticos en carnes bovinas de la IX y X regiones y análisis teórico de la situación actual nacional en relación a la aplicación de hormonas en bovinos, Vol 2, Análisis teórico de la situación actual nacional en relación a la aplicación de hormonas en bovinos. Valdivia, Chile: Universidad Austral de Chile y Ministerio de Agricultura
  57. Sáenz de Rodríguez CA, Bongiovanni AM, Conde de Borrego L (1985). An epidemic of precocious development in Puerto Rican children. *J Pediat* 107: 393-396
  58. Informe de Inspectores de Mataderos (1990). Primera Jornada de Análisis Técnico respecto al Uso de Anabólicos en Producción de Carne, Servicio Nacional de Salud y Servicio de Salud de Osorno, Osorno, Chile
  59. Youlton R, Valladares L (1990). Hormonas, alimentos y telarquia precoz. *Rev Chil Pediatr* 61: 51-53
  60. Aihara H, Kimura T, Kato K (1980). Dynamics of the estrogen receptor in the uteri of mice treated neonatally with estrogen. *Endocrinology* 107: 224-230
  61. Andersson C, Forsberg J-G (1988). Induction of estrogen receptor, peroxidase activity and epithelial abnormalities in the mouse uterovaginal epithelium after neonatal treatment with diethylstilbestrol. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 8: 347-361
  62. Haney AF, Newbold RR, Fetter BF, McLachlan JA (1986). Paraovarian cysts associated with prenatal diethylstilbestrol exposure. *Am J Pathol* 124: 405-411
  63. McLachlan JA, Newbold RR, Shah HC, Hogan MD, Dixon RL (1982). Reduced fertility in female mice exposed transplacentally to diethylstilbestrol (DES). *Fertil Steril* 38: 364-371.
  64. Herbst AL (1981). Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer* 48: 484-488
  65. Verheigen RH, Schijf CP, van Dongen PW, van der Zanden PH, Bakker EH (1991). Gynaecologische en obstetrische consequenties van blootstelling aan diethylstilbestrol (DES) in utero herbelicht. *Ned Tijdschr Geneesk* 135: 89-93
  66. Barraclough CA (1961). Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. *Endocrinology* 68: 62-67
  67. Vanderstichele H, Eechaute W, Lacroix E, Leusen I (1987). The effects of neonatal androgenization of male rats on testosterone metabolism by the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. *J Steroid Biochem* 26: 493-497
  68. Gaytan F, Bellido C, Aguilar R, Lucena MC (1986). Morphometric analysis of the rat ventral prostate and seminal vesicles during prepubertal development: effects of neonatal treatment with estrogen. *Biol Reprod* 25: 219-225
  69. Gaytan F, Bellido C, Lucena MC, Paniagua R (1986). Increased number of mast cells in the testis of neonatally estrogenized rats. *Arch Androl* 16: 175-182
  70. Shimada H, Gorbman A (1970). Long lasting changes in RNA synthesis in the forebrain of female rats treated with testosterone soon after birth. *Biochem Biophys Res Commun* 38: 423-430
  71. Reinisch JM (1977). Prenatal exposure of human fetuses to synthetic progestin and oestrogen affects personality. *Nature* 266: 561-562
  72. Segarra AC, Strand FL (1989). Perinatal administration of nicotine alters subsequent sexual behavior and testosterone levels in male rats. *Brain Res* 480, 151-159
  73. Sanchez de la Vega J, Amaya Gutierrez J, Alonso Flores JJ, Garcia Perez M (2003). Disfunción eréctil bajo los 40 años. Factores etiológicos y predisponentes. *Arch Esp Urol* 56: 161-164
  74. Lyngdorf P, Hemmingsen L (2004). Epidemiology of erectile dysfunction and its risk factors: a practice-based study in Denmark. *Int J Impot Res* 16: 105-111
  75. Rowland DL, Thornton JA, Burnett AL (2005). Recognizing the risk of erectile dysfunction in a urology clinic practice. *BJU Int* 95: 1034-1038
  76. Gocmez SS, Utkan T, Duman C, Yildiz F, Ulak G, Gacar MN, Erden F (2005) Secondhand tobacco smoke impairs neurogenic and endothelium-dependent relaxation of rabbit corpus cavernosum smooth muscle: improvement with chronic oral administration of L-arginine. *Int J Impot Res* 17: 437-444
  77. Pettersson A, Kaijser M, Richiardi L, Askling J, Ekborn A, Akre O (2004). Women smoking and testicular cancer: one epidemic causing another?. *Int J Cancer* 109: 941-944
  78. Jensen TK, Jorgensen N, Punab M, Haugen TB, Suominen J, Zilaitiene B, Horte A, Andersen AG, Carlsen E, Magnus O, Matulevicius V, Neramoen I, Vierula M, Keiding N, Toppari J, Skakkebaek NE (2004).

- Association of in utero exposure to maternal smoking with reduced semen quality and testis size in adulthood: a cross-sectional study of 1,770 young men from the general population in five European countries. *Am J Epidemiol* 159: 49-58
79. Smith LM, Cloak CC, Poland RE, Torday J, Ross MG (2003). Prenatal nicotine increases testosterone levels in the fetus and female offspring. *Nicotine Tob Res* 5: 369-374
80. Windham GC, Bottomley C, Birner C, Fenster L (2004). Age at menarche in relation to maternal use of tobacco, alcohol, coffee, and tea during pregnancy. *Am J Epidemiol* 159: 862-871
81. Pantaleoni GC, Fanini D, Sponta AM, Palumbo G, Giorgi R, Adams PM (1988). Effects of maternal exposure to polychlorobiphenyls (PCBs) on F1 generation behavior in the rat. *Fundam. Appl Toxicol* 11: 440-449
82. McCoy G, Finlay MF, Rhone A, James K, Cobb P (1995). Chronic polychlorinated biphenyls exposure on three generations of oldfield mice (*Peromyscus polionotus*): effects on reproduction, growth, and body residues. *Arch Environ Contam Toxicol* 28: 431-435
83. Lai TJ, Guo YL, Yu ML, Ko HC, Hsu CC (1994). Cognitive development in Yucheng children. *Chemosphere* 29: 2405-2411
84. Hsu MM, Mak CP, Hsu CC (1995). Follow-up of skin manifestations in Yu-Cheng children. *Brit J Dermatol* 132: 427-432
85. Fine JS, Gasiewicz TA, Silverstone AE (1989). Lymphocyte stem cell alterations following perinatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Mol Pharmacol* 35: 18-25
86. Gray LE Jr, Kelce WR, Monosson E, Ostby JS, Birnbaum LS (1995). Exposure to TCDD during development permanently alters reproductive function in male Long Evans rats and hamsters: reduced ejaculated and epididymal sperm numbers and sex accessory gland weights in offspring with normal androgenic status. *Toxicol Appl Pharmacol* 131: 108-118
87. Ohsako S, Miyabara Y, Nishimura N, Kurosawa S, Sakaue M, Ishimura R, Sato M, Takeda K, Aoki Y, Sone H, Tohyama C, Yonemoto J (2001). Maternal exposure to a low dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) suppressed the development of reproductive organs of male rats: dose-dependent increase of mRNA levels of 5 $\alpha$ -reductase type 2 in contrast to decrease of androgen receptor in the pubertal ventral prostate. *Toxicol Sci* 60: 132-143
88. Ohsako S, Miyabara Y, Sakaue M, Ishimura R, Kakeyama M, Izumi H, Yonemoto J, Tohyama C (2002). Developmental stage-specific effects of perinatal 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin exposure on reproductive organs of male rat offspring. *Toxicol Sci* 66: 283-292
89. Hamm JT, Sparrow BR, Wolf D, Birnbaum LS (2000). In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin alters postnatal development of seminal vesicle epithelium. *Toxicol Sci* 54: 424-430
90. Lin TM, Rasmussen NT, Moore RW, Albrecht RM, Peterson RE (2003). Region-specific inhibition of prostatic epithelial bud formation in the urogenital sinus of C57BL/6 mice exposed in utero to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Sci* 76: 171-181
91. Hurst CH, DeVito MJ, Setzer RW, Birnbaum LS (2000). Acute administration of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in pregnant Long Evans rats: association of measured tissue concentrations with developmental effects. *Toxicol Sci* 53: 411-420
92. Vreugdenhil HJ, Slijper FM, Mulder PG, Weisglas-Kuperus N (2002). Effects of perinatal exposure to PCBs and dioxins on play behavior in Dutch children at school age. *Environ Health Perspect* 110: A593-A598
93. Guo YL, Hsu PC, Hsu CC, Lambert GH (2000). Semen quality after prenatal exposure to polychlorinated biphenyls and dibenzofurans. *Lancet* 356: 1240-1241
94. Salisbury TB, Marcinkiewicz JL (2002). In utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran reduces growth and disrupts reproductive parameters in female rats. *Biol Reprod* 66: 1621-1626
95. Fenton SE, Hamm JT, Birnbaum LS, Youngblood GL (2002). Persistent abnormalities in the rat mammary gland following gestational and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Toxicol Sci* 67: 63-74
96. Birnbaum LS, Fenton SE (2003). Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environ Health Perspect* 111: 389-394
97. Bustos S, Denegri JC, Díaz F, Tchernitchin AN (1988). *p,p'*-DDT is an estrogenic compound. *Bull Environ Contam Toxicol* 41: 496-501
98. Bustos S, Soto J, Bruzzone N, Vásquez V, Tchernitchin AN (1995). Effect of *p,p'*-DDT and estrogen on the presence in the circulation and degranulation of blood eosinophil leukocytes. *Bull Environ Contam Toxicol* 55: 309-315
99. Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kemppainen JA, Wilson EM (1995). Persistent DDT metabolite *p,p'*-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*

- 375: 581-585
100. Sharpe RM (1995). Another DDT connection. *Nature* 375: 538-539
101. Swartz WJ, Corkern M (1992). Effects of methoxychlor treatment of pregnant mice on female offspring of the treated and subsequent pregnancies. *Reprod Toxicol* 16: 431-437
102. Suzuki M, Lee HC, Chiba S, Yonezawa T, Nishihara M (2004). Effects of methoxychlor exposure during perinatal period on reproductive function after maturation in rats. *J Reprod Dev* 50: 455-461
103. Sierra V, Uphouse L (1986). Long-term consequences of neonatal exposure to chlordane. *Neurotoxicology* 7: 609-621
104. Gomes M da S, Bernardi MM, Spinosa H de S (1991). Pyrethroid insecticides and pregnancy: effect on physical and behavioral development of rats. *Vet Hum Toxicol* 33: 315-317
105. Kitts DD (1987). Studies on the estrogenic activity of a coffee extract. *J Toxicol Environ Health* 20: 37-49
106. Hughes RN, Beveridge IJ (1990). Sex- and age-dependent effects of prenatal exposure to caffeine on open-field behavior, emergence latency and adrenal weights in rats. *Life Sci* 47: 2075-2088
107. Pollard I, Williamson S, Magre S (1990). Influence of caffeine administered during pregnancy on the early differentiation of fetal rat ovaries and testes. *J Dev Physiol* 13: 59-65
108. Wiebe JP, Barr KJ (1988). Effect of prenatal and neonatal exposure to lead on the affinity and number of estradiol receptors in the uterus. *J Toxicol Environ Health* 24: 451-460
109. Wiebe JP, Barr KJ, Buckingham KD (1988). Effect of prenatal and neonatal exposure to lead on gonadotropin receptors and steroidogenesis in rat ovaries. *J Toxicol Environ Health* 24: 461-476
110. Hildebrand DC, Der R, Griffin WT, Fahim MS (1973). Effect of lead acetate on reproduction. *Am J Obstet Gynecol* 115: 1058-1065
111. Odenbro A, Kihlström JE (1977). Frequency of pregnancy and ova implantation in triethyl lead-treated mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 39: 359-363
112. Nogaki K (1957). On the action of lead on body of lead refinery workers: particularly on the conception, pregnancy and parturition in the case of females and on vitality of their newborn. *Igaku Kinkiyu* 27: 1314-1338
113. Rom WN (1976). Effects of lead on the female and reproduction: a review. *Mt Sinai J Med* 43: 542-552
114. Needleman HL, Landrigan PJ (1981). The health effects of low level exposure to lead. *Ann Rev Public Health* 2: 277-298
115. Gilfillan SC (1965). Lead poisoning and the fall of Rome. *J Occup Med* 7: 53-60
116. McDowell J, Kitchen I (1988). Perinatal lead exposure alters the development of but not  $\mu$ -opioid receptors in rat brain. *Brit J Pharmacol* 94: 933-937
117. Jackson H, Kitchen I (1989). Perinatal lead exposure impairs opioid but not non-opioid stress-induced antinociception in developing rats. *Brit J Pharmacol* 97: 1338-1342
118. Bellinger DC, Needleman HL (1985). Prenatal and early postnatal exposure to lead: developmental effects, correlates, and implications. *Int J Ment Health* 14: 78-111
119. Rothenberg SJ, Schnaas L, Cansino-Ortiz S, Perroni-Hernández E, De La Torre P, Neri-Méndez C, Ortega P, Hidalgo-Loperena H, Svendsgaard D (1989). Neurobehavioral deficits after low level lead exposure in neonates: the Mexico city pilot study. *Neurotoxicol Teratol* 11: 85-93
120. Needleman HL, Schell A, Bellinger D, Leviton A, Allred EN (1990). The long-term effects on exposure to low doses of lead in children. An 11-year follow-up report. *New Engl J Med* 322: 83-88
121. Lasley SM, Greenland RD, Minnema DJ, Michaelson IA (1985). Altered central monoamine response to D-amphetamine in rats chronically exposed to inorganic lead. *Neurochem Res* 10: 933-944
122. Massaro TF, Miller GD, Massaro EJ (1986). Low-level lead exposure affects latent learning in the rat. *Neurobehav Toxicol Teratol* 8:109-113
123. Royce SE (1990). Lead Toxicity. Case Studies in Environmental Medicine, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, U.S. Department of Health & Human Services pp. 1.20
124. Goyer RA, Liu J, Waalkes MP (2004) Cadmium and cancer of prostate and testis. *Biomaterials* 17: 555-558
125. Sahnoun AE, Case LD, Jackson SA, Schwartz GG (2005) Cadmium and prostate cancer: a critical epidemiologic analysis. *Cancer Invest* 23: 256-263
126. Santos FW, Oro T, Zeni G, Rocha JB, do Nascimento PC, Nogueira CW (2004) Cadmium induced testicular damage and its response to administration of succimer and diphenyl diselenide in mice. *Toxicol Lett* 152: 255-263

127. Gunnarsson D, Svensson M, Selstam G, Nordberg G (2004) Pronounced induction of testicular PGF(2 alpha) and suppression of testosterone by cadmium-prevention by zinc. *Toxicology* 200: 49-58
128. Akinloye O, Orowojolu AO, Shittu OB, Anetor JI (2006) Cadmium toxicity: a possible cause of male infertility in Nigeria. *Reprod Biol* 6: 17-30
129. Saskena SK, Salmonsén R (1983) Effects of cadmium chloride on ovulation and on induction of sterility in the female golden hamster. *Biol Reprod* 29: 249-256
130. Copius Peereboom-Stegeman JH, Jongstra-Spaapen E, Leene W, Oosting H, Venema H, de Moor E, Gerrissen WJ (1987) The effects of long-term exposure to cadmium on the small blood vessels in the rat uterus: a light microscopic study. *Ecotoxicol Environ Saf* 14: 288-297
131. Rehm S, Waalkes MP (1988) Cadmium-induced ovarian toxicity in hamsters, mice, and rats. *Fundam Appl Toxicol* 10: 635-647
132. Levin AA, Plautz JR, di Sant'Agnese PA, Miller RK (1981) Cadmium: placental mechanisms of fetal toxicity. *Placenta Suppl* 3: 303-318
133. Sipowicz M, Kostrzewska A, Laudanski T, Akerlund M (1995) Effects of cadmium on myometrial activity of the nonpregnant human. Interactions with calcium and oxytocin. *Acta Obstet Gynecol Scand* 74: 93-96
134. Wang X, Tian J (2004) Health risks related to residential exposure to cadmium in Zhenhe County, China. *Arch Environ Health* 59: 324-330
135. Yang K, Julian L, Rubio F, Sharma A, Guan H (2006) Cadmium reduces 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 activity and expression in human placental trophoblast cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290: E135-E142
136. Nagata C, Nagao Y, Shibuya C, Kashiki Y, Shimizu H (2005) Urinary cadmium and serum levels of estrogens and androgens in postmenopausal Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 705-708
137. Stoica A, Katzenellenbogen BS, Martin MB (2000) Activation of estrogen receptor-alpha by the heavy metal cadmium. *Mol Endocrinol* 14, 545-553
138. Johnson MD, Kenney N, Stoica A, Hilakivi-Clarke L, Singh B, Chepko G, Clarke R, Sholler PF, Lirio AA, Foss C, Reiter R, Trock B, Paik S, Martin MB (2003) Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat Med* 9: 1081-1084
139. Martínez-Campa C, Alonso-González C, Mediavilla MD, Cos S, González A, Ramos S, Sanchez-Barcelo EJ (2006) Melatonin inhibits both ER alpha activation and breast cancer cell proliferation induced by a metalloestrogen, cadmium. *J Pineal Res* 40: 291-296
140. Young PC, Cleary RE, Ragan WD (1977) Effect of metal ions on the binding of 17beta-estradiol to human endometrial cytosol. *Fertil Steril* 28: 459-463
141. Collao C, Tchernitchin A (1976) Effect of sulphhydryl group blockage on estrogen binding by the receptors of the uterine eosinophils. *IRCS Med Sci* 4: 87
142. Baranski B, Stetkiewicz I, Sitarek K, Szymczak W (1983) Effects of oral, subchronic cadmium administration on fertility, prenatal and postnatal progeny development in rats. *Arch Toxicol* 54: 297-302
143. Watanabe N (2005) Decreased number of sperms and Sertoli cells in mature rats exposed to diesel exhaust as fetuses. *Toxicol Lett* 155: 51-58
144. Hilakivi-Clarke L, Cabanes A, de Assis S, Wang M, Khan G, Shoemaker WJ, Stevens RG (2004) In utero alcohol exposure increases mammary tumorigenesis in rats. *Br J Cancer* 90: 2225-2231
145. Wilcoxon JS, Redei EE (2004) Prenatal programming of adult thyroid function by alcohol and thyroid hormones. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 287: E318-E326
146. Zhang X, Sliwowska JH, Weinberg J (2005) Prenatal alcohol exposure and fetal programming: effects on neuroendocrine and immune function. *Exp Biol Med (Maywood)* 230: 376-388
147. McGivern RF, Clancy AN, Hill MA, Noble EP (1984) Prenatal alcohol exposure alters adult expression of sexually dimorphic behavior in the rat. *Science* 224: 896-898
148. Jungkuntz-Burgett L, Paredes S, Rudeen PK (1990) Reduced sensitivity of hypothalamic-preoptic area norepinephrine and dopamine to testosterone feedback in adult fetal ethanol-exposed male rats. *Alcohol* 7: 513-516
149. Dahlgren IL, Eriksson CJ, Gustafsson B, Harthorn C, Hard E, Larsson K (1989) Effects of chronic and acute ethanol treatment during prenatal and early postnatal ages on testosterone levels and sexual behaviors in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 33: 867-873
150. Fakoya FA, Caxton-Martins EA (2004) Morphological alterations in the seminiferous tubules of adult Wistar rats: the effects of prenatal ethanol exposure. *Folia Morphol (Warsz)* 63: 195-202
151. Ward IL, Ward OB, Affuso JD, Long WD 3rd, French JA, Hendricks SE (2003) Fetal testosterone surge: specific modulations induced in male rats by maternal stress and/or alcohol consumption. *Horm Behav* 43: 531-539
152. Ward OB, Ward IL, Denning JH, Hendricks SE, French JA (2002) Hormonal mechanisms underlying aberrant sexual differentiation in male rats prenatally exposed

- to alcohol, stress, or both. *Arch Sex Behav* 31: 9-16
153. McGivern RF, Handa RJ, Redei E (1993) Decreased postnatal testosterone surge in male rats exposed to ethanol during the last week of gestation. *Alcohol Clin Exp Res* 17: 1215-1222
154. McGivern RF, Handa RJ, Raum WJ (1998) Ethanol exposure during the last week of gestation in the rat: inhibition of the prenatal testosterone surge in males without long-term alterations in sex behavior. *Neurotoxicol Teratol* 20: 483-490
155. Wilson ME, Handa RJ (1997) Gonadotropin secretion in infantile rats exposed to ethanol in utero. *Alcohol* 14: 497-501
156. Kinsley CH, Mann PE, Bridges RS (1988) Prenatal stress alters morphine- and stress-induced analgesia in male and female rats. *Pharmacol Biochem Behav* 30: 123-128
157. Insel TR, Kinsley CH, Mann PE, Bridges RS (1990) Prenatal stress has long-term effects on brain opiate receptors. *Brain Res*, 511: 93-97
158. Ward IL. (1972) Prenatal stress feminises and demasculinises the behavior of males. *Science*, 175, 82-84
159. Dörner G, Schenk B, Schmiedel B, Ahrens L. (1983) Stressful events in prenatal life in bisexual and homosexual man. *Exp Clin Endocrinol*, 81, 83-87