

EFFECTOS RETARDADOS DE LA EXPOSICION PRENATAL O POSTNATAL TEMPRANA A CONTAMINANTES AMBIENTALES

Cuad. Méd. Soc. XXXVI, 4, 1995/ 16-23

*Dr. Andrei N. Tchermitchin**

Entre los efectos adversos retardados de diversos contaminantes ambientales, los que mejor se conocen son la teratogenicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad. La teratogenicidad se refiere a las malformaciones fetales macroscópicas que se producen por efecto de la exposición a estos contaminantes durante los primeros meses de vida intrauterina. Estas malformaciones son muy evidentes macroscópicamente o bien por la sintomatología clínica a que da lugar, por lo cual es relativamente fácil descubrir la presencia de malformaciones fetales y, como la noxa actuó durante la vida embrionaria o fetal precoz, es relativamente sencillo descubrir el agente causante. La mutagenicidad se refiere a la modificación del material genético por efecto de estos compuestos, que se detecta bajo condiciones de laboratorio como alteraciones cromosómicas claramente visibles, o como un aumento en la incidencia de mutaciones en diversos microorganismos; 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 heredado. Se considera que es relativamente sencillo detectar el efecto mutagénico de los diversos compuestos que afectan al ser humano, ya que experimentalmente aumentan la incidencia de diversas mutaciones en cultivos bacterianos de cepas mutantes en las cuales se cuantifican las mutaciones reversas en cepas mutantes. La carcinogenicidad se refiere a la promoción del de-

sarrollo de diversos tipos de neoplasia, que muchas veces son específicas para cada uno de los contaminantes que las causan. Sin embargo, sólo recientemente se ha descubierto que numerosos compuestos químicos que acceden al organismo durante la vida fetal tardía o durante los primeros años de la vida postnatal, originan cambios en la diferenciación 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 tardíos de la vida. Este fenómeno, descubierto por el biólogo húngaro Georgy Csaba, se ha denominado "imprinting", traducándose el término al español como fijación de vías de heterodiferenciación celular. Estos cambios, que también son causados por alteraciones en los niveles de diversas hormonas que se produzcan durante los períodos críticos de la diferenciación celular, suelen alterar las funciones de diversos órganos o predisponer al desarrollo de diversas patologías, a veces en forma tan tardía que sólo se hacen evidentes durante la edad adulta o aun senil.

La primera de las alteraciones retardadas 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 dietilestilbestrol (1). Estos hallazgos fueron confirmados en modelo experimental de animal

* Laboratorio de Endocrinología Experimental y Patología Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile

de laboratorio (2), marcando el inicio de numerosos estudios sobre el efecto retardado 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 dietilestilbestrol 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 Georgy 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 (3, 4). Estas alteraciones pueden ser detectadas durante períodos más tardíos de la vida, aun 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 (5, 6). Estudios posteriores efectuados por diversos científicos, algunos de ellos en nuestro Laboratorio, nos permitieron enunciar la hipótesis de la fijación de vías de heterodiferenciación celular (7), de acuerdo a la cual 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 aun 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. Este proceso puede originar el desarrollo de diversas enfermedades, muchas veces en forma tan retardada como durante la edad adulta.

De acuerdo a nuestra hipótesis (7), numerosas enfermedades que afectan a los adultos pueden 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.

CONTAMINACION DE ALIMENTOS CARNEOS 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 dietilestilbestrol en mujeres gestantes y ante la sospecha que el consumo, por ellas, de carne de animales tratados con dietilestilbestrol 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 dietilestilbestrol, el uso de cualquier otra hormona en crianza ganadera o avícola. Por el contrario, existe evidencia del amplio y reciente uso del dietilestilbestrol para crianza animal en Chile (8).

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 (9). 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 postimplante 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 (10), 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 (11).

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 (1, 2). En estos últimos, la exposición prenatal a dietilestilbestrol, alilestrenol, estradiol-17 β o benzoato de estradiol induce además cambios persistentes en la actividad de las hormonas esteroidales (6, 12-14), en la cantidad de receptores de estrógeno en el útero (6, 12, 13, 15) y alteraciones histológicas en el tracto genital femenino (14), desarrollo de quistes paraováricos (16) e infertilidad (17). En el ser humano se han descrito, por efecto de la exposición prenatal a dietilestilbestrol, alteraciones histológicas del tracto genital (18), desarrollo de quistes paraováricos (16), endometriosis (19), aumento de la incidencia de abortos (20) e infertilidad (19).

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 (21). Sin embargo, ha existido controversia respecto de la interacción con receptores de estrógeno o con la acción de la hormona. Estas controversias encontraron su explicación en el hallazgo realizado en nuestro laboratorio de un nuevo mecanismo de acción de los estrógenos que es responsable de un grupo separado de respuestas a la hormona (22, 23), y la descripción realizada por nosotros de diferencias entre los receptores citosólico-nucleares de los diferentes tipos celulares uterinos (24, 25), lo cual permite la disociación entre las diferentes respuestas a los estrógenos bajo numerosas condiciones (24-27). Esta disociación im-

plica que la interacción entre un contaminante y la acción de los estrógenos debe ser investigada tomando en consideración todos los mecanismos de acción hormonal involucrados y utilizando técnicas que permitan discriminar entre los diferentes tipos celulares uterinos. En efecto, 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) (28). 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 (29).

La exposición prenatal o perinatal a esteroides sexuales también produce cambios irreversibles en otros órganos y sistemas. La androgenización induce alteraciones permanentes en el metabolismo de la testosterona en el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal de ratas machos (30). La exposición neonatal a estrógenos determina alteraciones en el desarrollo y cambios estructurales y funcionales en el testículo, próstata y vesículas seminales (31, 32). El sistema inmune también se ve afectado. La exposición prenatal a dietilestilbestrol causa, en la especie humana, una alteración irreversible en la capacidad de respuesta inmune (33) y una mayor incidencia de enfermedades autoinmunitarias (34).

La exposición prenatal a esteroides sexuales afecta también en forma irreversible al sistema nervioso central. Causa en él cambios bioquímicos (35) 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 (36). Una exposición prenatal a niveles ligeramente más altos de dietilestilbestrol 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 (37-41), como también cambios en la conducta de juegos infantiles ligada a sexo (40) y una disminución de las manifestaciones del

instinto maternal en mujeres adultas (41). Por último, se ha descrito que en criminales con historia de extrema violencia o de violaciones sexuales, presentan niveles plasmáticos de andrógenos exageradamente elevados (38). 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 (9, 11).

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; los alimentos enlatados que son consumidos después de su fecha de vencimiento, o provenientes de envases que se encuentren abollados (lo cual produce soluciones de continuidad en el barniz protector cuya función es impedir el contacto directo del alimento con la soldadura de plomo, evitando la solubilización del metal); los alimentos enlatados que han sido conservados en sus latas después de que ellas hayan sido abiertas, y que presentan un alto contenido de plomo debido a la destrucción del barniz protector; 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.

La exposición a plomo afecta al sistema reproductor. En ratas adultas de sexo femenino que han sido expuestas perinatalmente a plomo, la concentración y características de los receptores de estrógeno en el útero son diferentes que en los animales no expuestos (42). También se han detectado alteraciones irreversibles en los receptores de gonadotropinas en el ovario y en la esteroidogénesis causados por la exposición perinatal (43). 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 (44, 45) y en seres humanos (46-48). También apoyan la hipótesis de la decadencia del Imperio Romano debi-

da 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 (49).

En la rata, la exposición prenatal a plomo produce un aumento irreversible en la afinidad de receptores δ opiáceos cerebrales (50), sin modificar los receptores μ 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 (51). 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 (52-54), 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 (7). El hallazgo de la potenciación de respuestas de dopamina y ácido 5-hidroxi-indol-acético a la anfetamina en animales expuestos a plomo (55) 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 (56). 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 tests de inteligencia, disminución del rendimiento escolar, aumento de fracasos escolares, dificultades en la lectura y una disminución de la coordinación visuomotora (46-48). 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 (57), lo cual es importante comparar con datos recientes en 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 tiene un nivel de plomo en la sangre superior o igual a 10 $\mu\text{g}/\text{dL}$. En este contexto es necesario mencionar que es posible esperar que los niveles de plomo en la sangre se eleven en forma considerable desde esa edad hacia los 5 años de edad. Es posible que la fijación de vías de heterodiferenciación en el sistema nervioso central esté involucrada en estas alteraciones causadas por plomo.

NICOTINA

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. 7 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 (58). Estas alteraciones 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 (58).

PESTICIDAS

Entre las alteraciones irreversibles producidas por exposición perinatal a pesticidas, se puede mencionar que la exposición a policlorobifenilos produce cambios persistentes de la conducta en ratas (59). La exposición a 2, 3, 7, 8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD) causa atrofia del timo y supresión de la respuesta inmune (60), al provocar una alteración de las vías de diferenciación de células troncales linfocitarias (60).

COMPONENTES NATURALES Y ADITIVOS DE LOS ALIMENTOS

Numerosos alimentos contienen componentes naturales que pueden inducir vías de heterodiferenciación celular si se produce la exposición prenatal o postnatal precoz a concentraciones elevadas de ellos. Por ejemplo, la alimentación con exceso de componentes lipídicos induce una memoria homeostática a colesterol, o una dieta perinatal con exceso de cloruro de sodio determina un aumento irreversible en el consumo de sal y en la excreción de sodio durante la edad adulta (ver ref. 7 para una revisión). Esto sugiere que factores dietéticos durante las etapas precoces de la vida postnatal modifican la capacidad de respuestas adaptativas durante etapas más tardías de la vida.

Algunos alimentos o bebidas contienen compuestos activos capaces de inducir vías de heterodiferenciación. El café, además de cafeína, contiene compuestos estrogénicos (ver ref. 7 para una revisión), que pueden inducir vías de heterodiferenciación.

Numerosas bebidas y alimentos elaborados contienen diversos compuestos exógenos que pueden inducir vías de heterodiferenciación celular. Por ejemplo, se adiciona cafeína a diversas bebidas de fantasía en muchos países y no se entrega la información 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 determina un aumento de la actividad y una disminución de la emotividad durante la edad adulta; dosis más altas de cafeína presentan los efectos opuestos (ver ref. 7 para una revisión). La exposición de ratas preñadas a cafeína inhibe la diferenciación del tejido intersticial testicular y las células de Leydig y reduce la biosíntesis de testosterona por el testículo fetal (61), lo cual a su vez puede inducir vías de heterodiferenciación celular en diversos órganos y tejidos.

Los nitritos y nitratos adicionados a los alimentos, además de su potencial cancerígeno (por la formación de nitrosaminas en la cavidad gástrica), pueden inducir vías de heterodiferenciación celular, de tal manera que la exposición prenatal determina un déficit en el aprendizaje y otros cambios neuroconductuales (ver ref. 7 para una revisión). En algunos países, incluyendo Chile, se ha adicionado tetraciclina a alimentos congelados; este antibiótico, por exposición prenatal, puede causar un déficit inmunológico persistente.

En la preparación de los alimentos elaborados se utilizan numerosos aditivos, 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). Sin embargo, la mayoría de estos compuestos no ha sido evaluada para los posibles riesgos para la salud por exposición perinatal.

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 ali-

mentos, 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 todas las acciones retardadas 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, alteraciones mentales y probablemente, aumentó la incidencia de homosexualismo y de adicción a drogas de abuso. 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, aumento de la drogadicción, y quizás el homosexualismo y el aumento de la violencia 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, además de contribuir a eliminar muchas de las lacras que amenazan a nuestra sociedad.

REFERENCIAS

- Herbst AL. Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer*, 1981, 48: 484-88.
- Newbold RR, McLachlan JA. Vaginal adenosis and adenocarcinoma in mice exposed prenatally or neonatally to diethylstilbestrol. *Cancer Res*, 1982, 42, 2003-2011.
- Csaba G, Nagy SU. Plasticity of hormone receptors and possibility of their deformation in neonatal age. *Experientia*, 1976, 32:651-652.
- Csaba G. Phylogeny and ontogeny of hormone receptors: the selection theory of receptor formation and hormonal imprinting. *Biol Rev*, 1980, 55:47-63.
- Dobozy O, Csaba G, Hetényi G, Shahin M. Investigation of gonadotropin thyrotropin overlapping and hormonal imprinting in the rat testis. *Acta Physiol Hung*, 1985, 66:169-175.
- Csaba G, Inczeffi-Gonda A, Dobozy O. 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*, 1986, 67:207-212.
- Tchermitchin AN, Tchermitchin N. Imprinting of paths of heterodifferentiation by prenatal or neonatal exposure to hormones, pharmaceuticals, pollutants and other agents or conditions. *Med Sci Res*, 1992, 20:391-397.
- Montes L, Tamayo R, Gesche E, Pinto M, Castro R, Schoebitz R, Cristi R, Aranda X, Sáez L, Dolz H, Silva R. 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 (1985).
- Sáenz de Rodríguez CA, Bongiovanni AM, Conde de Borrego L. An epidemic of precocious development in Puerto Rican children. *J Pediatr*, 1985, 107:393-396.
- Informe de Inspectores de Mataderos. 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 (1990).
- Youlton R, Valladares L. Hormonas, alimentos y telarquia precoz. *Rev Chil Pediatr*, 1990, 61:51-53.
- Gellert RJ, Lewis J, Pétra PH. Neonatal treatment with sex steroids: relationship between the uterotrophic response and the estrogen receptor in prepubertal rats. *Endocrinology*, 1977, 100:520-528.
- Aihara H, Kimura T, Kato K. Dynamics of the estrogen receptor in the utero of mice treated neonatally with estrogen. *Endocrinology*, 1980, 107:224-230.
- Andersson C, Forsberg J-G. Induction of estrogen receptor, peroxidase activity and epithelial abnormalities in the mouse uterovaginal epithelium after neonatal treatment with diethylstilbestrol. *Teratogen Carcinogen Mutagen*, 1988, 8:347-361.
- Campbell PS, Modlin PS. Uterine glucose metabolism in the prepubertal rat treated neonatally with androgen, estrogen and antihormones. *Experientia*, 1987, 43:309-310.
- Haney AF, Newbold RR, Fetter BF, McLachlan JA. Paraovarian cysts associated with prenatal diethylstilbestrol exposure. *Am J Pathol* 1986, 124:405-411.
- McLachlan JA, Newbold RR, Shah HC, Hogan MD, Dixon RL. Reduced fertility in female mice

- exposed transplacentally to diethylstilbestrol (DES). *Fertil Steril*, 1982, 38:364-371.
18. Herbst AL. Clear cell adenocarcinoma and the current status of DES-exposed females. *Cancer*, 1981, 48:484-488.
 19. Menczer J, Dulitzky M, Ben-Baruch G, Modan M. Primary infertility in women exposed to diethylstilboestrol in utero. *Br J Obstet Gynaecol*, 1986, 93:503-507.
 20. Verheigen RH, Schijf CP, van Dongen PW, van der Zanden PH, Bakker EH. Gynaecologische en obstetrische consequenties van blootstelling aan diethylstilbestrol (DES) in utero herbelicht. *Ned Tijdschr Geneeskd*, 1991, 135:89-93.
 21. Barraclough CA. Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. *Endocrinology*, 1961, 68:62-67.
 22. Tchernitchin AN. Eosinophil-mediated non-genomic parameters of estrogen stimulation: a separate group of responses mediated by an independent mechanism. *J Steroid Biochem*, 1983, 19:95-100.
 23. Tchernitchin AN, Mena MA, Soto J, Unda C. The role of eosinophils in the action of estrogens and other hormones. *Med Sci Res*, 1989, 17:5-10.
 24. Tchernitchin AN, Mena MA, Rodríguez A, Maturana M. Radioautographic localization of estrogen receptors in the rat uterus: a tool for the study of classical and nontraditional mechanism of hormone action. In: Pertschuk LP, Lee SH (eds.), *Localization of Putative Steroid Receptors*, vol. 1. Boca Raton, FL: CRC Press (1985) pp. 5-37.
 25. Grunert G, Porcia M, Tchernitchin AN. Differential potency of oestradiol-17 β and diethylstilbestrol on separate groups of responses in ther at uterus. *J Endocrinol*, 1986, 110:103-114.
 26. Tchernitchin AN, Galand P. Dissociation of separate mechanisms of estrogen action by actinomycin D. *Experientia*, 1982, 38:511-513.
 27. Galand P, Tchernitchin N, Tchernitchin AN. Dissociation of uterine eosinophilia and water imbibition from other estrogen-induced responses by nafoxidine pretreatment. *Mol Cell Endocrinol*, 1985, 42:227-233.
 28. Arriaza CA, Mena MA, Tchernitchin AN. Prenatal androgenization selectively modifies some responses to oestrogen in the prepubertal rat uterus. *J Endocrinol*, 1989, 120:379-384.
 29. Mena MA, Arriaza CA, Tchernitchin AN. Early androgenization imprints selective changes in the action of estrogens in the rat uterus. *Biol Reprod*, 1992, 46:1080-1085.
 30. Vanderstichele H, Eechaute W, Lacroix E, Leusen I. The effects of neonatal androgenization of male rats on testosterone metabolism by the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. *J Steroid Biochem*, 1987, 26:493-497.
 31. Gaytan F, Bellido C, Aguilar R, Lucena MC. Morphometric analysis of the rat ventral prostate and seminal vesicles during prepubertal development: effects of neonatal treatment with estrogen. *Biol Reprod*, 1986, 25:219-225.
 32. Gaytan F, Bellido C, Lucena MC, Paniagua R. Increased number of mast cells in the testis of neonatally estrogenized rats. *Arch Androl*, 1986, 16:175-182.
 33. Ways SC, Mortola JF, Zvaifler NJ, Weiss RJ, Yen SSC. Alterations in immune responsiveness in women exposed to diethylstilbestrol in utero. *Fertil Steril*, 1987, 48:193-197.
 34. Noller KI, Blair PB, O'Brien PC, Melton LJ III, Offord JR, Kaufman RH, Colton T. Increased occurrence of autoimmune disease among women exposed to diethylstilbestrol. *Fertil Steril*, 1988, 49:1080-1082.
 35. Shimada H, Gorbman A. Long lasting changes in RNA synthesis in the forebrain of female rats treated with testosterone soon after birth. *Biochem Biophys Res Commun*, 1970, 38:423-430.
 36. Reinish J.M. Prenatal exposure of human fetuses to synthetic progestin and oestrogen affects personality. *Nature*, 1977, 266:561-562.
 37. Ehrhardt AA, Mayer-Bahlburg HFL. Effects of prenatal hormones on gender-related behavior. *Science*, 1981, 211:1312-1318.
 38. Rubin, RT, Reinish JM, Haskett RF. Postnatal gonadal steroid effects on human behavior. *Science*, 1981, 211, 1318-1324.
 39. Reinish JM, Sanders SA. Prenatal gonadal steroidal influences on gender-related behavior. *Rec Prog Brain Res*, 1984, 61, 407-416.
 40. Meyer-Bahlburg HF, Feldman JF, Cohen P, Ehrhardt AA. Perinatal factors in the development of genderrelated play behavior: sex hormones versus pregnancy complications. *Psychiatry*, 1988, 51:260-271.
 41. Ehrhardt AA, Meyer-Bahlburg HF, Rosen LR, Feldman JF, Veridiano NP, Elkin EJ, McEwen BS. The development of ender-related behavior in females following prenatal exposure to diethylstilbestrol (DES). *Horm Behav*, 1989, 23:526-541.
 42. Wiebe JP, Barr KJ. Effect of prenatal and neonatal exposure to lead on the affinity and number of estradiol receptors in the uterus. *J Toxicol Environ Health*, 1988, 24:451-460.
 43. Wiebe JP, Barr KJ, Buckingham KD. Effect of prenatal and neonatal exposure to lead on gonadotropin receptors and steroidogenesis in rat ovaries. *J Toxicol Environ Health*, 1988, 24: 461-476.
 44. Hildebrand DC, Der R, Griffin WT, Fahim MS. Effect of lead acetate on reproduction. *Am J Obstet Gynecol*, 1973, 115:1058-1065.
 45. Odenbro A, Kihlström JE. Frequency of pregnancy and ova implantation in triethyl lead-treated mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1977, 39: 359-363.

46. Nogaki K. 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*, 1957, 27:1314-1338.
47. Rom WN. Effects of lead on the female and reproduction: a review. *Mt Sinai J Med*, 1976, 43:542-552.
48. Needleman HL, Landrigan PJ. The health effects of low level exposure to lead. *Ann Rev Public Health*, 1981, 2:277-298.
49. Gilfillan SC. Lead poisoning and the fall of Rome. *J Occup Med*, 1965, 7:53-60.
50. McDowell J, Kitchen I. Perinatal lead exposure alters the development of δ but not μ -opioid receptors in rat brain. *Brit J Pharmacol*, 1988, 94:933-937.
51. Jackson H, Kitchen I. Perinatal lead exposure impairs opioid but not non-opioid stress-induced antinociception in developing rats. *Brit J Pharmacol*, 1989, 97:1338-1342.
52. Bellinger DC, Needleman HL. Prenatal and early postnatal exposure to lead: developmental effects, correlates, and implications. *Int J Ment Health*, 1985, 14:78-111.
53. Rothenberg SJ, Schnaas L, Cansino-Ortiz S, Perroni-Hernández E, De La Torre P, Neri-Méndez C, Ortega P, Hidalgo-Loperena H, Svendsgaard D. Neurobehavioral deficits after low level lead exposure in neonates: the Mexico city pilot study. *Neurotoxicol Teratol*, 1989, 11:85-93.
54. Needleman HL, Schell A, Bellinger D, Leviton A, Allred EN. The long-term effects on exposure to low doses of lead in children. An 11-year follow-up report. *New Engl J Med*, 1990, 322:83-88.
55. Lasley SM, Greenland RD, Minnema DJ, Michaelson IA. Altered central monoamine response to D-amphetamine in rats chronically exposed to inorganic lead. *Neurochem Res*, 1985, 10: 933-944.
56. Massaro TF, Miller GD, Massaro EJ. Low-level lead exposure affects latent learning in the rat. *Neurobehav Toxicol Teratol*, 1986, 8:109-113.
57. Royce SE. Lead Toxicity. Case Studies in Environmental Medicine, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Public Health Service, U.S. Department of Health & Human Services (1990) pp. 1.20.
58. Segarra AC, Strand FL. Perinatal administration of nicotine alters subsequent sexual behavior and testosterone levels in male rats. *Brain Res*, 1989, 480, 151-159.
59. Pantaleoni GC, Fanini D, Sponta AM, Palumbo G, Giorgi R, Adams PM. Effects of maternal exposure to polychlorobiphenyls (PCBs) on F1 generation behavior in the rat. *Fundam Appl Toxicol*, 1988, 11:440-449.
60. Fine JS, Gasiewicz TA, Silverstone AE. Lymphocyte stem cell alterations following perinatal exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Mol Pharmacol*, 1989, 35:18-25.
61. Pollard I, Williamson S, Magre S. Influence of caffeine administered during pregnancy on the early differentiation of fetal rat ovaries and testes. *J Dev Physiol*, 1990, 13:59-65.