

# MEDIDA DA DISTÂNCIA ANOGENITAL EM CÃES E GATOS

*Amanda de Brito Meireles<sup>1</sup>, Katlyn Barp Meyer<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Acadêmica do curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Maringá – UNICESUMAR. amanda\_de\_brito@hotmail.com

<sup>2</sup>Orientadora, Doutora, Professora de Medicina Veterinária, UNICESUMAR. katlyn.meyer@unicesumar.edu.br

## RESUMO

Disfunções reprodutivas vêm se mostrando mais frequentes entre seres humanos, o que pode ser resultado da exposição a desreguladores endócrinos (DE) com ação antiandrogênica ou estrogênica, como os ftalatos, amplamente utilizados em materiais plásticos. Durante a fase fetal, os indivíduos expostos a essas substâncias são mais suscetíveis, principalmente os do sexo masculino expostos durante a fase de masculinização fetal. A distância anogenital (AGD) é um parâmetro estável e dimórfico, maior em machos do que em fêmeas, utilizado como variável em associação com a exposição aos desreguladores endócrinos e doenças reprodutivas. Os animais domésticos também estão expostos aos DE da mesma forma que os seres humanos e os efeitos decorrentes dessa exposição são similares, razão pela qual é relevante avaliar a AGD nestes animais, que estão sendo cogitados como possíveis sentinelas da exposição humana. Mensuramos a AGD em cães e gatos de organizações não-governamentais e de tutores particulares a fim de aperfeiçoar a técnica de medição e sua padronização. O índice anogenital foi calculado para padronizar a AGD em relação ao peso corporal do animal. Nosso estudo aponta que a AGD em gatos é uma medida dimórfica e de fácil medição, que não tem correlação com o peso corporal do indivíduo, nesta espécie; enquanto que, nos cães, não foi obtido o dimorfismo esperado entre machos e fêmeas, sendo necessária a modificação da técnica utilizada para medição, a fim de obter resultados confiáveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** ação antiandrogênica; desreguladores endócrinos; disfunções reprodutivas; ftalatos.

## 1 INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos apontam que disfunções reprodutivas vêm aumentando entre seres humanos. O primeiro estudo que chamou atenção da comunidade científica para esse fato foi publicado por Carlsen e colaboradores (1992) que demonstraram uma queda de mais de 50% na concentração de espermatozoides em homens sem histórico de infertilidade em um período de 50 anos. Além de alterações no sêmen, estudos também relatam o aumento da incidência de criptorquidismo, hipospadias e câncer testicular (ASKLUND et al., 2007; HUTSON et al., 2005; LEA et al., 2016; LUOH et al., 1997; MEMON, 2007; VAN DER ZANDEN et al., 2012).

Essas alterações reprodutivas podem ser resultado da exposição humana aos desreguladores endócrinos (DE). Os DE são substâncias com capacidade de mimetizar a ação de hormônios no corpo humano. Existem diversas classes de DE separadas de acordo com o hormônio que mimetizam, dentre elas a classe de moléculas com ação antiandrogênica ou estrogênica é a que está mais diretamente associada com as desordens reprodutivas (MAGNUSSON et al., 2015). Alguns exemplos de DE que afetam o eixo hormonal reprodutivo são anticoncepcionais femininos, alimentos derivados de soja que contêm fito estrógenos, medicamentos, como antidepressivos e analgésicos, agrotóxicos, dentre outros (KRISTENSEN et al., 2011; FISHER et al., 2016). Vale destacar uma classe de DE com atividade antiandrogênica, os ftalatos, os quais são adicionados aos plásticos para conferir-lhes maleabilidade. Devido ao uso intenso de embalagens plásticas pela sociedade, essas substâncias têm sido intensamente estudadas (ZIMMERMANN et al., 2019; BERTONCELLO et al., 2018).

De acordo com o período da vida em que o indivíduo é exposto aos DE as disfunções reprodutivas podem ser mais ou menos graves. O período fetal é a fase de maior susceptibilidade do indivíduo, principalmente para indivíduos do sexo masculino expostos aos DE durante a fase de masculinização fetal, compreendida entre as semanas 10 e 22 de gestação no homem (WELSH et al., 2008). É nessa fase que os órgãos reprodutivos masculinos estão se desenvolvendo e dependem de uma adequada

exposição aos androgênios fetais. A exposição aos DE antiandrogênicos ou estrogênicos pode levar à síndrome da disgenesia testicular, uma associação de alterações reprodutivas que se manifestam ao nascimento, como distância anogenital (AGD) reduzida, criptorquidismo e hipospadias ou na vida pós-púbere, como câncer testicular e sub ou infertilidade (EDWARDS et al., 2006; GRIECO et al., 2008; JUUL et al., 2014; SCHWARTZ et al., 2019; LEVINE et al., 2017; LUCCHESI et al., 2017; SWAN et al., 2005, 2008; WELSH et al., 2008; DORMAN et al., 2018).

A AGD é um parâmetro antropométrico sexualmente dimórfico, maior em indivíduos do sexo masculino e menor no sexo feminino. É um parâmetro estável, ou seja, uma vez estabelecida a dimensão da AGD no período fetal ela sofre pouca alteração ao longo da vida do indivíduo (KITA et al., 2016). Além disso, é um parâmetro de fácil obtenção e não invasivo. Devido a essas características, a AGD é usada como variável em associação com a exposição aos DE e doenças reprodutivas (SALAZAR-MARTINEZ et al., 2004; KITA et al., 2016; BERTONCELO et al., 2018).

Efeitos adversos na reprodução em decorrência da exposição aos DE também são verificados em outras espécies (MAGNUSSON et al., 2015). Os animais domésticos estão expostos de diversas formas, por poluentes ambientais, uso de hormônios sintéticos de crescimento ou para regularização do ciclo reprodutivo em fêmeas, exposição oral a ftalatos e bisfenol A, por meio da ingestão ou mastigação de brinquedos, contato próximo com poeira ou ingestão de ração e alimentos contendo resíduos e uso de potes plásticos (DYE et al., 2007; PÅLSSON, 2016; SWAN et al., 2015; VENIER; HITES, 2011; WOOTEN; SMITH, 2013). Essa exposição é confirmada por estudos recentes, que demonstraram a presença de ftalatos na urina de cães e gatos (KARTHIKRAJ et al., 2019; PÅLSSON, 2016).

Considerando que a forma de exposição em seres humanos e animais domésticos não difere, a exposição aos DE poderia ocasionar efeitos similares. Já foi demonstrado efeito similar da exposição aos DE entre humanos e animais de laboratório, por exemplo (FISCHER et al., 2003; KRISTENSEN et al., 2011; KITA et al., 2016).

Dessa forma, a comunidade científica tem ressaltado a importância de verificar se está havendo aumento de desordens reprodutivas e se a alteração da AGD pode estar relacionada com a predisposição a disfunções reprodutivas em animais domésticos (MAGNUSSON, 2015; ALI et al., 2013). É importante observar também que um valor padrão de AGD em cães e gatos ainda não existe na literatura. Avaliar a AGD nesses animais é relevante não somente à saúde animal, mas também para a saúde humana, pois cães e gatos estão sendo cogitados como possíveis sentinelas da exposição humana aos DE (ALI et al., 2013; DYE et al., 2007). Portanto, nesse estudo, buscou-se padronizar a metodologia para medir a AGD em cães e gatos.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 ANIMAIS

Para realização do estudo foram usados 198 animais oriundos de organizações não-governamentais ou de tutores particulares, após a obtenção de autorização. Destes, 73 eram machos e 85 fêmeas de gatos domésticos (*Felis catus*) e 17 machos e 23 fêmeas de cães domésticos (*Canis familiaris*).

### 2.2 COLETA DE DADOS

Uma balança digital de chão foi utilizada para registrar o peso dos animais e a mensuração da AGD foi realizada com o uso de paquímetro digital (Western Pro Carbon Fiber Composites Digital Caliper).

Os gatos de ambos os sexos foram posicionados em posição anatômica sobre uma mesa. A pessoa encarregada de realizar a medida, o avaliador, posicionou-se próximo à região perineal do animal e um assistente posicionou-se lateralmente ao animal, mantendo-o na posição adequada, de forma relaxada, com a calda espontaneamente ereta. Para mensurar a AGD, o avaliador manteve o paquímetro em um plano transversal em relação ao animal com a mão direita, com o corpo do paquímetro apontado para a mesa e a ponta de medição fixa posicionada paralelamente ao centro do ânus. Nos gatos machos, a ponta móvel de medição do paquímetro foi posicionada no orifício externo da uretra, enquanto nas fêmeas, no centro da vulva (figura 1).

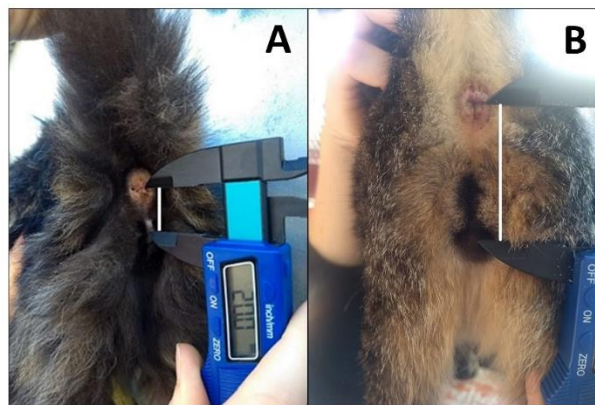


Figura 1: Medida da distância anogenital em gatos do sexo feminino (A) e masculino (B).

Fonte: o autor, 2019.

Quanto à medida realizada nos cães, as diferenças na metodologia em relação àquela utilizada nos gatos foram: (1) o assistente auxiliou a contê-los e a segurar a cauda de forma ereta, formando um ângulo de 90 graus com a coluna vertebral; e (2) a ponta móvel de medição do paquímetro foi posicionada na base do escroto, e, nas fêmeas, no centro da vulva (figura 2).

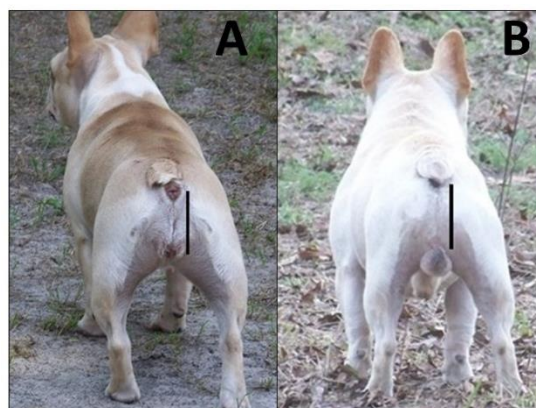


Figura 2: Medida da distância anogenital em cães do sexo feminino (A) e masculino (B).

Fonte: Página All Star French Bulldogs <http://www.allstarfrenchbulldogs.com/FrenchBulldogButts.html>.

Acesso em 06/08/2019.

A AGD de cada animal foi mensurada três vezes, sequencialmente, sendo fechada a ponta móvel do paquímetro entre cada uma das medições. A correção da AGD foi realizada por meio da divisão da média das medidas da AGD pela raiz cúbica do peso do animal, resultando no índice anogenital (GALLAVAN, et al., 1999).

## 2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise descritiva para peso e AGD, variáveis estudadas até o momento, foi realizada, sendo os dados reportados como média  $\pm$  erro padrão da média. Diferenças entre os grupos, definidos de acordo com o sexo e espécie de animais foram analisadas por teste *t* de Student, para variáveis paramétricas utilizando-se um alfa de 5%. Coeficiente de correlação de Pearson foi calculado entre peso e AGD.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Como era esperado, a AGD foi duas vezes maior em gatos do sexo masculino ( $43,0 \pm 0,49$  cm) do que no feminino ( $20,0 \pm 0,31$  cm), como demonstrado no gráfico 1. Porém, nos cães, não observamos o dimorfismo sexual esperado, sendo a AGD maior nas fêmeas ( $48,0 \pm 3,4$  cm) do que nos machos ( $36,6 \pm 2,3$  cm), como demonstrado no gráfico 2.

No homem (BERTONCELO et al., 2018), em ratos (KITA et. al., 2016) e camundongos a AGD é maior em indivíduos do sexo masculino do que no feminino e essa é a regra geral para os animais. O resultado inesperado para cães pode ser resultado da anatomia da genitália externa nesses animais e da técnica utilizada para medição. De maneira a simplificar a medição, testamos, inicialmente, medir a AGD de cães do sexo masculino com os indivíduos em posição anatômica, a partir do ânus até a base do escroto. Essa medida é apresentada na literatura como possivelmente dimórfica entre os sexos (ROMANO-RIQUER et al., 2007) e pode ser utilizada para seres humanos. Porém, diferente de humanos, ratos e gatos, a anatomia dos cães requer a contenção do animal em decúbito dorsal para possibilitar a medição da AGD de forma direta a partir do ânus até o orifício externo da uretra, metodologia que nos propomos a experimentar na continuação do estudo.

Diferentemente do que ocorreu com os cães, medir a AGD em gatos foi prático, já que a posição do escroto e do orifício externo da uretra nesta espécie está no plano caudal e esses pontos são bem marcados e facilitaram o posicionamento do paquímetro.

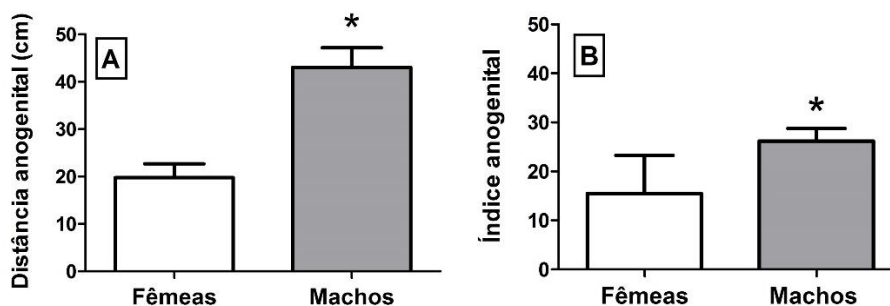


Gráfico 1 – Distância anogenital (A) e índice anogenital (B;  $IAG = AGD / \sqrt[3]{\text{peso corporal}}$ ) em gatos fêmeas (n=85) e machos (n=73) castrados. \*  $p < 0,05$  (teste *t* de Student).

Fonte: dados da pesquisa.

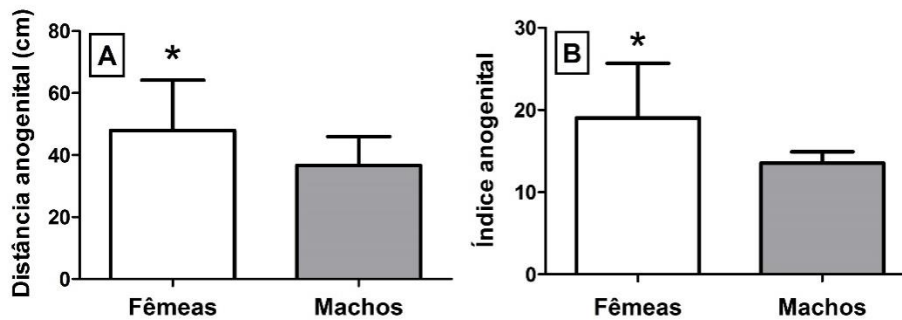


Gráfico 2 – Índice anogenital ( $IAG = AGD / \sqrt[3]{\text{peso corporal}}$ ) em cães fêmeas (n=23) e machos (n=17) castrados. \*  $p < 0.05$  (teste  $t$  de Student).

Fonte: dados da pesquisa.

O peso corporal médio dos gatos machos foi de  $4,5 \pm 0,1$  kg e das fêmeas de  $3,6 \pm 0,1$  kg, enquanto dos cães machos foi de  $17,2 \pm 0,9$  kg e das fêmeas de  $12,4 \pm 1,5$  kg. O peso corporal dos animais deve ser registrado para realizar a correção da medida da AGD para o peso corporal, resultando no índice anogenital (IAG), já que, ao menos em outras espécies, quanto maior o peso do animal, maior a AGD. O cálculo para a correção da AGD para o peso corporal foi estabelecido por Gallavan (1999) em ratos Sprague-Dawley e utilizada para padronizar a medida em humanos (BERTONCELO et al., 2018) e animais (KITA et al., 2018).

Diferentemente do verificado em estudo realizado com humanos recém-nascidos ou com ratos de laboratório, nos quais verificou-se que o peso corporal dos recém-nascidos foi uma determinante importante da AGD do sexo masculino (BERTONCELO et al., 2018; ROMANO-RIQUER et al., 2007; GALLAVAN et al., 1999), não foi encontrada correlação entre o peso dos cães e gatos e o valor de sua AGD.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, nosso estudo é o primeiro a apresentar um valor médio de AGD para a espécie felina, medida que pode ser facilmente obtida em gatos de ambos os sexos. A AGD em gatos apresentou-se dimórfica entre os sexos como relatado em estudos com animais de laboratório e seres humanos. Além disso, medir a AGD em gatos é mais prático do que em cães. Para os cães, propomos adaptar a metodologia para medir a AGD posicionando o cão em decúbito dorsal e posicionando o paquímetro entre o orifício externo da uretra e o ânus.

#### REFERÊNCIAS

- ALI, N. et al. Organohalogenated contaminants (OHCs) in the serum and hair of pet cats and dogs: Biosentinels of indoor pollution. **Science of the Total Environment**, v. 449, p. 29–36, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969713000569?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- ASKLUND, C. et al. Increased frequency of reproductive health problems among fathers of boys with hypospadias. **Human reproduction (Oxford, England)**, v. 22, n. 10, p. 2639–46, out. 2007. Disponível em: <https://academic.oup.com/humrep/article/22/10/2639/599139>. Acesso em: 06/08/2019.
- BERTONCELLO SOUZA, M. et al. Unexpected, ubiquitous exposure of pregnant Brazilian women to diisopentyl phthalate, one of the most potent antiandrogenic phthalates. **Environment International**, vol: 119, p: 447-454, 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412018306901?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- CARLSEN, E. et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. **Bmj**, v. 305, p.

- 609–613, 1992. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1393072>. Acesso em: 06/08/2019.
- DORMAN, D. et al. Systematic Reviews and Meta-Analyses of Human and Animal Evidence of Prenatal Diethylhexyl Phthalate Exposure and Changes in Male Anogenital Distance. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews**, vol: 21 (4), p. 207-226, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10937404.2018.1505354?journalCode=uteb20>. Acesso em: 06/08/2019
- DYE, J. A. et al. Elevated PBDE levels in pet cats: Sentinels for humans? **Environmental Science and Technology**, v. 41, n. 18, p. 6350–6356, 2007. Disponível em: <https://pubs.acs.org/>. Acesso em: 06/08/2019.
- EDWARDS, T. M. et al. Reproductive dysgenesis in wildlife: A comparative view. **International Journal of Andrology**, v. 29, n. 1, p. 109–121, 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2605.2005.00631.x>. Acesso em: 06/08/2019.
- FISHER, B. G. et al. Prenatal paracetamol exposure is associated with shorter anogenital distance in male infants. **Human Reproduction**, v. 31, n. 11, p. 2642–2650, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27609981>. Acesso em: 06/08/2019.
- FISHER, J. S. et al. Human “testicular dysgenesis syndrome”: A possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. **Human Reproduction**, v. 18, n. 7, p. 1383–1394, 2003. Disponível em: <https://academic.oup.com/humrep/article/18/7/1383/2913444>. Acesso em: 06/08/2019.
- GALLAVAN, R. H. et al. Interpreting the toxicologic significance of alterations in anogenital distance: potential for confounding effects of progeny body weights. **Reproductive Toxicology**, v.13, p. 383–390, 1999. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0890623899000362?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- GRIECO, V. et al. Evidence of testicular dysgenesis syndrome in the dog. **Theriogenology**, v. 70, n. 1, p. 53–60, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X08001040?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- HUTSON, J. M.; HASTHORPE, S. Abnormalities of testicular descent. **Cell and Tissue Research**, v. 322, n. 1, p. 155–158, 2005. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00441-005-1126-4>. Acesso em: 06/08/2019.
- JUUL, A. et al. Possible fetal determinants of male infertility. **Nature reviews. Endocrinology**, v. 10, n. 9, p. 553–62, 2014. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrendo.2014.97>. Acesso em: 06/08/2019.
- KARTHIKRAJ, R.; LEE, S.; KANNAN, K. Urinary Concentrations and Distribution Profiles of 21 Phthalate Metabolites in Pet Cats And Dogs. **Science of The Total Environment**, vol: 690 p. 70-75, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969719331092>. Acesso em 06/08/2019.
- KITA, D. et al. Manipulation of pre and postnatal androgen environments and anogenital distance in rats. **Toxicology**, vol: 368-369, p. 152-161, 2016. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X16301962?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- KRISTENSEN, D. M. et al. Intrauterine exposure to mild analgesics is a risk factor for development of male reproductive disorders in human and rat. **Human Reproduction**, v. 26, n. 1, p. 235–244, 2011. Disponível em: <https://academic.oup.com/humrep/article/26/1/235/710117>. Acesso em: 06/08/2019.
- LEA, R. G. et al. Environmental chemicals impact dog semen quality in vitro and may be associated with a temporal decline in sperm motility and increased cryptorchidism. **Nature Publishing Group**, n. August, p. 1–12, 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/srep31281>. Acesso em: 06/08/2019.
- LEVINE, H. et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. **Human Reproduction Update**, p. 1–14, 2017. Disponível em: <https://academic.oup.com/humupd/article/23/6/646/4035689>. Acesso em: 06/08/2019.
- LUCCHESI, T. A. et al. Endocrine Disruptors and Fetal Programming. **Open Journal of Endocrine and Metabolic Diseases**, v. 7, n. 1, p. 59–76, 2017. Disponível em:

- [https://www.researchgate.net/publication/312392948\\_Endocrine\\_Disruptors\\_and\\_Fetal\\_Programming](https://www.researchgate.net/publication/312392948_Endocrine_Disruptors_and_Fetal_Programming). Acesso em: 06/08/2019.
- LUOH, S. W. et al. Zfx mutation results in small animal size and reduced germ cell number in male and female mice. **Development (Cambridge, England)**, v. 124, n. 11, p. 2275–84, jun. 1997. Disponível em: <https://dev.biologists.org/content/124/11/2275.long>. Acesso em: 06/08/2019.
- MAGNUSSON, U.; PERSSON, S. Endocrine Disruptors in Domestic Animal Reproduction: A Clinical Issue? **Reproduction in Domestic Animals**, v. 50, p. 15–19, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/rda.12563>. Acesso em: 06/08/2019.
- MEMON, M. A. Common causes of male dog infertility. **Theriogenology**, v. 68, n. 3, p. 322–328, 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X07001720?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- PÅLSSON, E. **Phthalate Metabolite Concentrations in Urine Samples From Swedish Pet Dogs**. Swedish University of Agricultural Sciences, 2016. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/340a/8db2d9c755d39254a68045b1bdeea6f9e581.pdf>. Acesso em: 06/08/2019.
- ROMANO-RIQUER, S. P. et al. Reliability and determinants of anogenital distance and penis dimensions in male newborns from Chiapas, Mexico. **Paediatric and Perinatal Epidemiology**, vol. 21, p. 219–228, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3016.2007.00810.x>. Acesso em: 06/08/2019.
- SALAZAR-MARTINEZ, E. et al. Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, cross-sectional study. **Environmental Health**, vol. 3, n. 8, set. 2004. Disponível em: <https://ehjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1476-069X-3-8>. Acesso em: 06/08/2019.
- SCHWARTZ, C. et al. Anogenital distance as a toxicological or clinical marker for fetal androgen action and risk for reproductive disorders. **Archives of Toxicology**, vol. 93 (2), p. 253–272, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00204-018-2350-5>. Acesso em: 06/08/2019.
- SWAN, S. H. Decrease in Anogenital Distance among Male Infants with Prenatal Phthalate Exposure. **Research**, v. 113, n. 8, p. 1056–1061, ago. 2005. Disponível em: [https://ehp.niehs.nih.gov/doi/full/10.1289/ehp.8100?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%3dpubmed](https://ehp.niehs.nih.gov/doi/full/10.1289/ehp.8100?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%3dpubmed). Acesso em: 06/08/2019.
- SWAN, S. H. Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. **Environmental Research**, v. 108, n. 2, p. 177–184, out. 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013935108001862?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- SWAN, S. H. et al. First trimester phthalate exposure and anogenital distance in newborns. **Human Reproduction**, v. 30, n. 4, p. 963–972, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/humrep/article/30/4/963/613595>. Acesso em: 06/08/2019.
- VAN DER ZANDEN, L. F. M. et al. Aetiology of hypospadias: a systematic review of genes and environment. **Human Reproduction Update**, v. 18, n. 3, p. 260–283, 2012. Disponível em: <https://academic.oup.com/humupd/article/18/3/260/608667>. Acesso em: 06/08/2019.
- VENIER, M.; HITES, R. A. Flame retardants in the serum of pet dogs and in their food. **Environmental Science and Technology**, v. 45, n. 10, p. 4602–4608, 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es1043529>. Acesso em: 06/08/2019.
- WELSH, M. et al. Identification in rats of a programming window for reproductive tract masculinization, disruption of which leads to hypospadias and cryptorchidism. **J. Clin. Invest**, vol. 118, p. 1479–1490, 2008. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/34241>. Acesso em: 06/08/2019.
- WOOTEN, K. J.; SMITH, P. N. Canine toys and training devices as sources of exposure to phthalates and bisphenol A: Quantitation of chemicals in leachate and in vitro screening for endocrine activity. **Chemosphere**, v. 93, n. 10, p. 2245–2253, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004565351301059X?via%3Dihub>. Acesso em: 06/08/2019.
- ZIMMERMANN, L.; DIERKES, G.; TERNES, T.A.; VÖLKER, C.; WAGNER, M. Benchmarking

the *in Vitro* Toxicity and Chemical Composition of Plastic Consumer Products. Environmental Science & Technology **Just Accepted Manuscript**, ago. 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.9b02293>. Acesso em: 06/08/2019.