

REVISIÓN

Disruptores Endocrinos. Efectos en la Reproducción.

Parte 1

Chichizola, C.

Introducción

Un gran número de sustancias químicas artificiales que se han vertido al medio ambiente, así como algunas naturales, tienen un potencial para perturbar el sistema endocrino de los animales, incluidos los seres humanos. Entre ellas se encuentran las sustancias persistentes, bioacumulativas y organohalógenas que incluyen algunos plaguicidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas), las sustancias químicas industriales, otros productos sintéticos y algunos metales pesados. Muchas poblaciones animales ya han sido afectadas por estas sustancias.

El término disruptor endocrino sirve para definir a cualquier compuesto químico, contaminante medio ambiental, que una vez incorporado a un organismo vivo afecta al equilibrio hormonal. Aunque cualquier sistema hormonal puede verse implicado, la información disponible sobre la disrupción hormonal causada por los agonistas-antagonistas de las hormonas sexuales femeninas o estrógenos, es cualitativa y cuantitativamente muy superior ¹.

Las funciones reproductivas en la mayoría de los invertebrados y en todos los vertebrados están bajo el control de una red integrada de señales químicas que definimos como el sistema endocrino.

Los químicos ambientales que mimetizan o bloquean las hormonas endógenas pueden desbalancear este sistema. Son evidentes las implicancias potenciales que existen en los humanos y en las especies animales.

A partir del año 1980 se los llamaba estrógenos

ambientales ² y desde que la atención en este área de investigación ha ido creciendo se los ha llamado disruptores endocrinos químicos ³, xenoestrógenos ⁴, hormonas ambientales ^{5,6}, agentes hormonalmente activos ⁷, y señales ambientales ⁸.

Los disruptores endocrinos interfieren en el funcionamiento del sistema hormonal mediante alguno de estos tres mecanismos: suplantando a las hormonas naturales, bloqueando su acción o aumentando o disminuyendo sus niveles. Las sustancias químicas disruptoras endocrinas no son venenos clásicos ni carcinógenos típicos. Se atienen a reglas diferentes. Algunas sustancias químicas hormonalmente activas apenas parecen plantear riesgos de cáncer.

En los niveles que se encuentran normalmente en el entorno, no matan células ni atacan el ADN. Su objetivo son las hormonas, los mensajeros químicos que se mueven constantemente dentro de la red de comunicaciones del cuerpo.

Los efectos varían de una especie a otra y de una sustancia a otra.

Las sustancias químicas que nos preocupan pueden tener efectos totalmente distintos sobre el embrión, el feto o el organismo perinatal que sobre el adulto. Los efectos se manifiestan con mayor frecuencia en las crías, que en el progenitor expuesto; el momento de la exposición en el organismo en desarrollo es decisivo para determinar su carácter y su potencial futuro, aunque la exposición crítica tiene lugar durante el desarrollo embrionario, las manifestaciones obvias pueden no producirse hasta la madurez ⁹.

Disruptores Endocrinos y La Investigación Científica.

En 1958, el Dr. Hertz describió el “ciclo esteroideo” y anticipándose a lo que ahora llamamos disruptores endocrinos decía: “Debemos considerar que la introducción de las hormonas en los vacunos en “feed lots” lleva a una exposición en las personas que de otra manera nunca en sus vidas hubieran estado en contacto con estas sustancias. Esto no es una consideración teórica ya que encontramos dos familias, cada una con dos niños, quienes presentaban ginecomastia atribuible a una contaminación accidental de estrógenos durante la producción de cápsulas de vitaminas. Si tales estrógenos pueden, por manipulación, conseguir entrar en los preparados farmacéuticos, ellos podrían estar donde el fármaco no está preparado para actuar”.

“Sabemos que las sustancias por excreción fecal van a la tierra y que por generaciones estarán ahí, esto tiene efecto potencialmente sobre la contaminación del agua de suministro y también en el cultivo de los vegetales. Establecido el ciclo esteroideo en el medio ambiente deberemos considerar las implicancias en el crecimiento, desarrollo y en las funciones reproductivas”^{10,11}.

Después de las predicciones de Rachel Carson¹², en su libro *Primavera Silenciosa-Silent Spring* en 1962, hubo un desarrollo alarmante sobre los potenciales efectos adversos de los contaminantes ambientales, particularmente aquellos que involucran las funciones endocrino-reproductivas.

En el año 1994 el Dr. Arnold Schecter¹³ publica *Dioxinas y Salud-Dioxins and Health*, el cual reúne información (entre 1984 y 1990) en investigación clínica y de laboratorio relacionada a los efectos de las dioxinas.

Theo Colborn, John Peterson Myers y Dianne Dumanoski¹⁴ en el año 1996 publican *Nuestro Futuro Robado-Our Stolen Future* que reúne por primera vez las alarmantes evidencias obtenidas en estudios de campo, experimentos de laboratorio y estadísticas humanas, para plantear en términos científicos el caso de este nuevo peligro que pasa inadvertido.

En el año 2000, Krimsky¹⁵ en su libro *Caos Hormonal-Hormonal Chaos*, hace una excelente

introducción a la política, sociología, ciencia, historia, y filosofía relacionada a los disruptores endocrinos. Dice: “la hipótesis endocrina ambiental, establece que un grupo de químicos industriales y de la agricultura en contacto con humanos y animales tienen la capacidad de mimetizar u obstruir la función hormonal llevándolo a aceptar nuevas instrucciones que distorsionan el desarrollo normal del organismo”. Desde un punto de vista de la patología humana, la hipótesis endocrina ambiental podría ser la hipótesis de salud ambiental más significativa desde el descubrimiento de la “mutagénesis química”. La década de los 90 significó un cambio radical en la aproximación conceptual de la comunidad científica al tema de la exposición humana y los efectos sobre la salud de los disruptores endocrinos. Se han descubierto nuevos disruptores endocrinos que se corresponden, actualmente, tanto con compuestos organohalogenados –bromados y clorados— como con sustancias químicas de estructura molecular muy diversa que están siendo utilizados en muchos productos en diversas actividades de la vida moderna. Por ejemplo, el grupo de los alquilfenoles es bien conocido tras las publicaciones de principios de los 90 que demostraban la estrogenicidad del p-nonilfenol y señalaban su presencia como aditivo del plástico poliestireno, como componente de los detergentes industriales, como inerte en la formulación de pesticidas y como espermicida, entre sus aplicaciones farmacológicas. El descubrimiento de la estrogenicidad de los alquilfenoles fue seguido de la demostración, en 1993, de un caso similar de contaminación por material plástico, en este caso el policarbonato, cuyo monómero base resultó ser el bisfenol-A. El bisfenol-A está presente en las latas de conserva con recubrimiento interior de resina epóxi, los selladores dentales, los biberones de policarbonato y los pegamentos de dos componentes. Bisfenol-A, al igual que nonilfenol, es un mimetizador de los estrógenos naturales.

Publicaciones aún más recientes han expandido la lista de los nuevos disruptores endocrinos, que incluye ahora compuestos con aplicaciones múltiples como los ftalatos, los parabenos y los retardantes de la llama. Es previsible el crecimiento de esta lista, ya que:

- El número de sustancias químicas investigadas en

cuanto a su toxicidad hormonal es mínimo, si se tiene en cuenta el gran número de compuestos químicos sintetizados por la industria.

- Las actividades hormonales investigadas se han limitado a la aplicación de unos pocos tests de estrogenicidad y androgenicidad y no se ha incluido aún la investigación sistemática de efectos sobre otros sistemas hormonales como tiroides, suprarrenales, etc.

Además, en estos diez últimos años nuevos estudios intentan asociar exposición a disruptores endocrinos y enfermedad. Pero, si es difícil probar la asociación entre hormonas naturales y el desarrollo de una determinada enfermedad tumoral, aún más lo es el establecer cómo los xenoestrógenos, por ejemplo, pueden encontrarse en la base del proceso de transformación maligna y crecimiento tumoral. Algunas de las dificultades que se encuentran para establecer esta asociación son:

- La baja potencia hormonal de los xenoestrógenos.
- La variedad en cuanto a su naturaleza y estructura química dificulta su identificación y fuente de exposición.

- La posibilidad de que los efectos combinados puedan ser críticos para ejercer un efecto hormonal y la falta de disponibilidad de métodos para evaluar tales efectos.

-La incertidumbre que rodea al efecto de estos compuestos químicos que varía dependiendo del órgano diana y de las circunstancias de la exposición.

La característica común a los disruptores endocrinos organoclorados es su liposolubilidad, lo que favorece que estos compuestos químicos sean bioacumulados en el tejido adiposo.

Por esta razón, algunos estudios epidemiológicos han tratado, con mayor o menor éxito, establecer una asociación entre la exposición a pesticidas organoclorados bioacumulables y el riesgo de padecimiento de cáncer de mama ¹⁶.

Apoyados en observaciones previas (Para una revisión ver Helzlsouer y col., 1999), varios estudios de grandes series de pacientes fueron sucesivamente desarrollados en New York (1993), San Francisco (1994), Vietnam (1997), México (1997), varios países de Europa, entre ellos España (1997), Dinamarca (1998) y US/Washington (1999). Los resultados de estos trabajos son muy dispares.

Algunos de los estudios han asignado un papel al DDT en el riesgo de cáncer de mama ¹⁷, mientras

que la mayor parte de los trabajos han fallado en el establecimiento de tal asociación. En otros casos el riesgo de enfermedad tumoral se ha asociado con la presencia de otros plaguicidas distintos del DDT, como es el caso del dieldrin ¹⁸ o del mirex ¹⁹.

Actualmente se presume que el efecto disruptor endocrino puede manifestarse a través de efectos más sutiles como pudieran ser ciertos fracasos funcionales en sistemas dependientes de las hormonas.

Por esta razón, se está prestando especial atención a la exposición intrauterina, que podría alterar en el embrión-feto expuesto el desarrollo normal aunque sus consecuencias no se manifiesten clínicamente hasta la pubertad o la edad adulta. De hecho, criptorquidia o no descenso testicular, calidad seminal, pubertad precoz y problemas en el rendimiento intelectual encabezan los objetivos de investigación de numerosos grupos de Europa y EE.UU.

Nadie sabe todavía qué cantidades de las sustancias químicas disruptoras endocrinas son necesarias para que representen un peligro para el ser humano. Los datos indican que podrían ser muy pequeñas si la exposición tiene lugar antes del nacimiento. En el caso de las dioxinas, los estudios recientes han demostrado que la exposición a dosis ínfimas es peligrosa.

La mayoría de nosotros portamos varios centenares de sustancias químicas persistentes en nuestro cuerpo, entre ellas muchas que han sido identificadas como disruptores endocrinos.

Por otra parte, las portamos en concentraciones que multiplican por varios millares los niveles naturales de los estrógenos libres, es decir, estrógenos que no están enlazados por proteínas sanguíneas y son, por tanto, biológicamente activos.

Las hormonas que pueden alterar el proceso de información ya sea por una vía de respuesta impresa o impartiendo funciones de memoria en las células, podemos esperar que tengan efectos a largo plazo en los organismos desarrollados. El efecto estará relacionado al número y tipos de errores de la programación inducida.

Miméticos Estrogénicos- Breve Historia

El enfoque de la ciencia ambiental endocrina se puso de manifiesto sobre aquellos químicos que

mimetizan la hormona sexual femenina, el estradiol.

El primer químico sintético que se encontró que mimetiza la actividad de una hormona esteroidea endógena fue un estrógeno. En 1933, Dodds y col.²⁰ describieron el 1-keto-1:2:3:4 tetrahidrofenantreno (Fig. 1) como el primer compuesto con actividad de excitación²⁰. Dodds continuó examinando las bases estructurales para la estrogenicidad y en poco tiempo²¹ describió el primer estrógeno sintético sin el núcleo fenantreno, la estructura común a los esteroides.

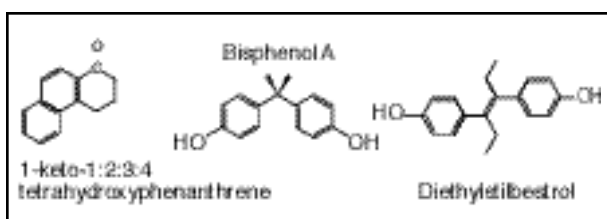


Figura 1

Evaluó una serie de compuestos bifenilos y concluyó que sólo aquellos con dos grupos hidroxilos en la posición para deberían ser activos como estrógenos.

El compuesto di-(p-hidroxifenil) dimetil metano, llamado bisfenol A, o BPA puede ser el primer modulador químico del receptor de estrógeno selectivo sintético (SERM) reportado. Fig.1.

Los experimentos de Dodds representaron un adelanto farmacológico en la síntesis química abriendo nuevas rutas a la misma función biológica exhibida por una variedad de estructuras químicas, como la estrogenicidad, determinada empleando el método de cornificación vaginal de la rata ovariectomizada introducido ocho años antes.

Estos estudios estructurales culminaron en 1938 con el descubrimiento del dietilstilbestrol o DES²². El DES, un derivado del núcleo stilbene, fue más eficaz que los otros compuestos analizados por Dodds. Como es un compuesto que se administra oralmente, es relativamente estable, menos costoso para producir, por lo cual resultó el estrógeno sintético de elección para la medicina y también la agricultura. Fig.1.

Su uso médico incluyó la terapia de reemplazo estrogénico, la supresión de la lactación, la contra-

cepción poscoital, el mantenimiento del embarazo y la terapia de cáncer de próstata. En agricultura el DES se usó químicamente para castrar pollos y estimular el desarrollo del ganado vacuno. Mientras la diseminación del uso de DES en "feed lots" vacunos llevó a la introducción de toneladas de estrógenos potentes en el ecosistema, el BPA se destinó por lejos para usos más grandes.

El BPA se usa ampliamente en la producción de polímeros de plástico, primariamente policarbonatos. Es de alguna manera irónico que dos químicos sintéticos el DES (el estrógeno potente) y el BPA (estrógeno de acción débil) hallan sido desarrollados en el laboratorio de Sir Charles Dodds.

Como todas las hormonas esteroideas, el 17 - Estradiol contiene los tres anillos fenantreno, para estrogenicidad, el primero o anillo A debe contener un grupo hidroxifenólico.

El DES (estrógeno químico) y el etinil-estradiol (estrógeno farmacológico) son tan potentes como el estradiol. Hay a menudo, pero no siempre, la presencia de un anillo aromático o dos. Fig.2.

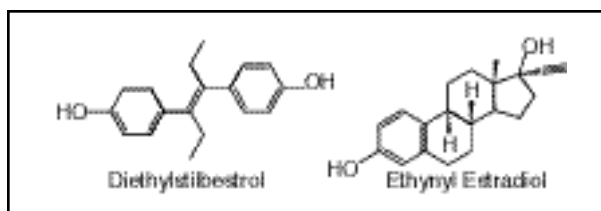


Figura 2

La mayoría de estos químicos ambientales contienen átomos de cloro. El rol que el cloro juega en la actividad hormonal todavía no está claro. El kepone (clordecone) es una molécula cúbica conteniendo cloro en cada carbono excepto en uno, se sabe que es estrogénica²³. Fig. 3.

En muchos casos estos productos químicos fueron sintetizados comprobándose su acción hormonal (DES).

Otro de los ejemplos es el plaguicida DDT. En 1950 por Burlington y Lindman²⁴ lograron estrogenizar pollos expuestos, acción biológica muy distante a la que originalmente se planteó como objetivo para la síntesis de este producto. Conney y col. en 1969²⁵ confirmaron la actividad estrogénica del

DDT, asimismo describieron que varios pesticidas resultaron inductores del P450. David Kupper ²⁶ realizó una amplia revisión sobre la estrogenicidad del DDT y compuestos similares.

Otros hidrocarburos clorados como los PCBs demostraron su función estrogénica en análisis in vitro e in vivo ²⁷. El grado de hidroxilación y la localización del cloro y grupos hidroxilo son determinantes importantes en la actividad biológica.

En el caso de fenoles alquil sustituidos, tales como p-nonilfenol, la potencia estrogénica de dicho compuesto está relacionada a la longitud lateral de la cadena lateral y sustituyentes de la misma ²⁸. Fig. 3.

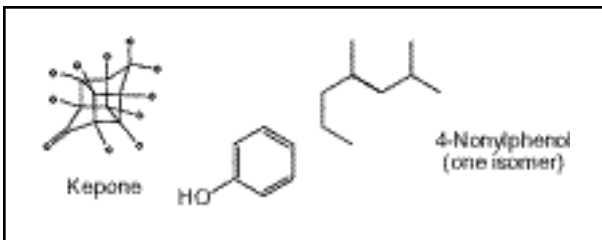


Figura 3

De cualquier manera todos los estrógenos conocidos como involuntarios son mucho menos potentes que el estrógeno 17 β -estradiol. La acción biológica de los tóxicos ambientales se estudió in vitro con su interacción con el receptor de estradiol aislado con células de órgano blanco para esteroides. La respuesta hormonal obtenida permite diferenciar los tóxicos con un efecto similar al del estradiol de aquellos que no lo poseen, a pesar de que ambos interactúan con el receptor. Esto demuestra que hay tóxicos que tienen un efecto sinérgico a la hormona y otros que interfieren en su acción. (Fig. 4, parte superior, ref. 29).

Además de este fenómeno descrito sobre el receptor hormonal intervienen cofactores y otras vías de señales celulares capaces de tener un efecto mimetizador o de bloqueo a la respuesta hormonal ref. 30-32. La parte inferior de la fig. 4 esquematiza estos hechos.

Metcalf ³³ investigó un modelo de ecosistema, marcando DES y reportó que éste fue persistente y bioacumulativo. Se sabe que después de la administración oral el conjugado DES glucurónico se

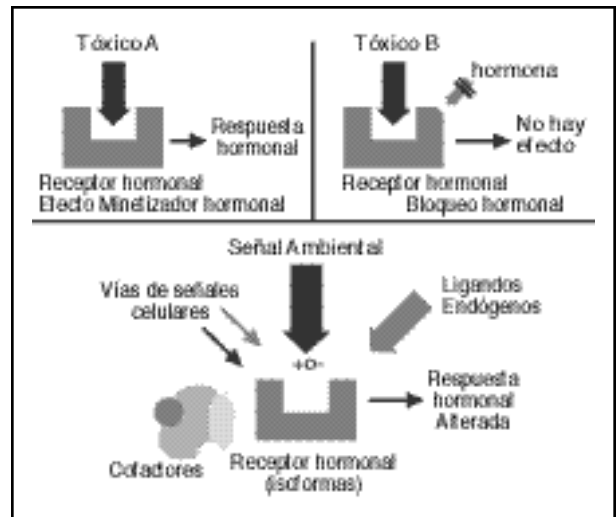


Figura 4

metaboliza por bacterias intestinales y se absorbe por la sangre como un compuesto estrogénico pobre biológicamente ³⁴.

Estos resultados sugieren que la conjugación de estrógenos ambientales excretados pueden no limitar la eficacia de la hormona.

Otra categoría de contaminación ambiental con estrógenos sintéticos es la excreción de componentes farmacológicos usados para contracepción o reemplazo hormonal en humanos. Hay pocos estudios sobre los niveles de drogas en aguas de deshecho y menos en agua de consumo. Un componente de contraceptivos orales el 17 β -etinilEstradiol se encontró en cantidades trazas en efluentes de aguas de deshecho ^{35,36}. Los estrógenos y sus glucurónidos se encontraron en aguas residuales en municipios de Alemania, Canadá, Brasil ³⁷ y en aguas de deshecho en Holanda ³⁸.

Irwin y Oberdoerster ³⁹ demostraron feminización de tortugas viviendo en estanques que recibieron deshechos de campos de vacunos.

Miméticos Estrogénicos. Hallazgos más recientes.

Mientras las hormonas ambientales son un fenómeno nuevo y sus efectos biológicos no están muy clarificados, en cultivos de células de sistemas biológicos estos compuestos generaron una respuesta

mimética similar a la de los estrógenos ^{40,41}. En 1986 Berthois y col. ⁴² demostraron que el comúnmente usado indicador de pH en los cultivos celulares, el rojo fenol generaba un pico de estrógenos. Se conoció luego que un componente de la preparación del rojo fenol era el bis-(4-hidroxifenol)-[2-fenoxisulfonyl fenol] metano, el componente químico responsable de la actividad estrogénica ⁴³.

Esta acción estrogénica no esperada en el medio de cultivo celular fue lo suficientemente activa biológicamente para estimular las células en un medio privado de estrógenos. Por esta razón a partir de 1986 se dejó de usar en el medio de cultivo.

Cinco años después Soto y col. ⁴⁴ encontraron en algunas cajas de petri o tubos de plásticos p-nonilfenol. Este alquilfenol se demostró que era estrogénico y este hallazgo fue un presagio de la asociación demostrada por Sumpster ⁴⁵ entre el p-nonilfenol y la feminización de pescados en el Reino Unido (UK).

Otro ejemplo es el bifenol A, un constituyente monomérico del policarbonato, el cual fue originalmente sintetizado como un estrógeno. Feldman y col. ⁴⁶ descubrió una proteína de unión estrogénica y un ligando endógeno en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Luego se demostró que la sustancia estrogénica era el bifenol A, la cual se liberaba del policarbonato cuando las cajas de petri donde se hacían los cultivos se autoclavaban para su esterilización ⁴⁷.

De acuerdo a los hallazgos podemos hablar de un "fenotipo estrogénico ambiental" que tiene dos componentes, uno de desarrollo u "organizacional" y otro adulto o "activacional". Un ejemplo del efecto directo activacional de estrógenos ambientales en la vida silvestre es el caso de los monos chectahs. Se encontró una falla reproductiva y enfermedad hepática en cautiverio. Síntomas clínicos como enfermedad venooclusiva hepática encontrada en estos animales en el zoológico de Cincinatti sugirieron hiperestrogenización ⁴⁸. Estudios cromatográficos (HPLC y GC-MS) revelaron grandes cantidades de fitoestrógenos, daidzeín y genistein en su dieta. Se estimó que consumían 50 mg de este compuesto por día, cuando se cambió la dieta de soja por carne roja la función hepática mejoró. Fig.5.

Thigpen y col. ⁴⁹ demostraron que dietas están-

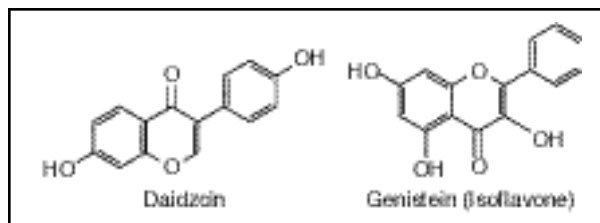


Figura 5

dar a roedores conteniendo fitoestrógenos daidzein y genistein variaban la actividad uterotrónica ⁴⁹. Ellos demostraron ⁵⁰ que luego de siete días de dieta tuvieron un aumento de peso uterino parecido a lo visto cuando se les da 6 ppb de DES.

La Zearalelona, Fig. 6, una micotoxina fúngica producida por el *Fusarium*, se une al receptor estrogénico ⁵¹ y es uterotrónica en la rata recién nacida ⁵². El consumo de maíz contaminado con *Fusarium* se asocia a efectos estrogénicos en ganado y aves de corral tal como prolapso de cloaca en pavos ⁵³ y deterioro de la fertilidad en vacunos ⁵⁴, hiperestrogenicidad en cerdos ⁵⁵. El último desorden ha sido llamado "el síndrome de grano fatal". La contaminación exacta por micotoxinas estrogénicas en alimentos para humanos no es bien conocida pero se estima en 3 µg/persona/día en USA.

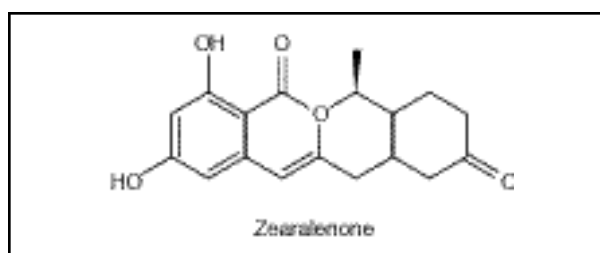


Figura 6

Hay estudios que ilustran los efectos estrogénicos exógenos agudos, reversibles (activacional) en el hombre. El más informativo se titula "El misterio del funebrero: hipogonadismo hipogonadotrófico y ginecomastia en un embalsamador" ⁵⁶, un hombre de 50 años con una pérdida progresiva de la libido, una disminución en el tamaño testicular y desarrollo de la barba con marcado desarrollo mamario. Como estos síntomas se asocian con exceso de estrógenos

en el hombre, el paciente, un funebrero fue examinado cuidadosamente en la búsqueda de un tumor productor de estrógenos y de exceso de estrógenos séricos. Al no encontrar una respuesta clínica se sugirió que habría una fuente exógena o una exposición ambiental de estrógenos. En el suero del paciente se encontró un compuesto químico orgánico no conocido que efectivamente desplazaba el estradiol marcado de su receptor. Una actividad similar se descubrió en la crema usada por el paciente para embalsamar. Cuando se lo alejó de la fuente estrogénica, el paciente comenzó a restaurar la libido, el tamaño testicular, la cantidad de espermatozoides, también como la reducción del tamaño mamario. Los autores remarcaron la reversibilidad de los síntomas clínicos.

La exposición industrial es más común e induce disturbios de la función reproductiva, tal como oligospermia en hombres e irregularidades menstruales en mujeres.

Se registraron los efectos estrogénicos de ocho sustancias químicas de relevancia ambiental incluyendo PCBs, benzofenonas, parabenos, bisfenol A y genisteína usando un screening con una levadura recombinante estrogénica (YES).

Se tuvo en cuenta el grado proporcional de potencia de cada componente individual y se compararon la adición de concentración, factores de equivalencia tóxica, efectos de suma y la acción independiente.

Los dos primeros fueron válidos para el cálculo de los efectos de la mezcla aditiva. Hubo excelente acuerdo entre predicción y observación. En contraste los dos últimos dejaron en claro subestimaciones de las respuestas observadas experimentalmente.

Lo que se vio es una mezcla de los efectos aun cuando cada químico estaba presente a niveles más bajos que su NOEC (Non Observable Effect Concentration) o sea la concentración donde empiezan a verse los efectos. Por esta circunstancia podríamos estar subestimando el riesgo de estos compuestos ⁵⁷.

Disruptores Endocrinos. Clasificación

Entre las sustancias químicas de efectos disruptores sobre el sistema endocrino, (alrededor de 50

estudiadas), las cuales están todavía en uso comercial no hay una clasificación precisa pero es posible agruparlos de la siguiente manera: plaguicidas, químicos organohalogenados, plásticos y químicos industriales.

Plaguicidas:

Históricamente corresponde a algunos plaguicidas organoclorados el haber sido los primeros compuestos químicos relacionados con la afectación del equilibrio hormonal estrogénico.

Plaguicidas organoclorados: alaclor, clordane, clordecone (kepone), DDT, DDE, DBCP, dicofol, dieldrin, endosulfan, hexaclorobenceno, beta-HCH (hexaclorociclohexano), gamma-HCH (lindano), metoxicloro, mirex, toxafeno, transnonaclaro, etc.

Plaguicidas no clorados: amitrole, atrazine, benomil, carbaril, carbofuran, diazinon, metiram, maneb, meribuzin, oxidemtronmetil, paration, fenilfenol procimidone, ciertos piretroides sintéticos, tiram, tributiltin (TBT), vinclozolin, zineb, ziram, varios funguicidas conazole, etc.

Usados en agricultura, cultivos acuáticos y pinturas de barcos. Debido a que los plaguicidas organoclorados son persistentes y acumulables la exposición humana no ha remitido a pesar de que muchos de ellos no se usan en la actualidad.

Químicos Organohalogenados:

PCBs: (policlorados bifenilos) actualmente prohibidos. Se trata de compuestos de uso industrial que se utilizaban en el pasado como refrigerantes y aceites industriales. Las concentraciones en tejidos humanos han permanecido constantes en los últimos años aun cuando la mayoría de los países industrializados pusieron fin a la producción de PCBs hace más de una década, porque dos tercios de los PCBs producidos en todas las épocas continúan en uso en transformadores u otros equipos eléctricos y, por consiguiente, pueden ser objeto de liberación accidental. A medida que van ascendiendo en la cadena alimentaria, la concentración de PCBs en los tejidos animales puede aumentar hasta 25 millones de veces ^{58,59}.

Dioxinas y furanos: se generan en la producción de cloro y compuestos clorados, como el PVC (cloruro de polivinilo) o los plaguicidas órganoclorados, el blanqueo con cloro de la pasta de papel y la incineración de residuos ¹³.

Fenoles halogenados, pentaclorofenol (PCP): usado como preservativo de madera y en textiles. Eliminado en países europeos.

Percloroetileno (PERC): el principal solvente usado en limpieza en seco.

Polibrominados bisfenol A: ampliamente usado como retardante de calor en plásticos. Son un grupo de químicos adicionados a muchos productos incluyendo la PC, TV, textiles, en orden de reducir el riesgo de fuego. Tienen similares propiedades que los PCBs, los más comunes usados son el polibrominado difenileter (PBDEs) y el tetrabromobisfenol A (TPB-A). Se encontraron contaminando grasa de esperma de ballena, y leche de mama en Suecia ^{60,61,62}.

4-Cl-3-metilfenol: usado en productos cosméticos.

4-Cl-2-metilfenol: usado como un aditivo en pesticidas.

Plásticos:

Los ftalatos se usaron como plastificantes en muchos plásticos desde 1930, en tintas, productos de empaque, adhesivos, fórmula de leche para chicos, quesos, margarinas, en fluoruro de vinilo, pinturas de emulsión, pesticidas, spray para cabello, repelentes de insectos. El 95 por ciento del DEHP (di(2etilhexil)ftalato) se emplea en la fabricación del Policloruro de Vinilo (PVC), Fig. 7. Son compuestos químicos de uso habitual en la industria de los plásticos, utilizándose como aditivos que mejoran la calidad del producto final. Se usan también como conservantes alimentarios debido a su capacidad antioxidante. Ellos son usados en PVC, polivinilacetato, poliuretano, y algunos plásticos de poliestireno.

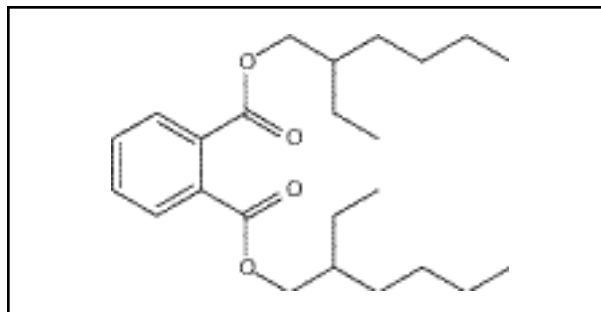


Figura 7

Son solubles en grasas, se acumulan en tejido adiposo y también tienden a concentrarse en alimentos como la manteca, margarina y el queso. Hay dos problemas principales que resultan de incinerar PVC en el medio ambiente. Uno es la formación de dioxinas y furanos. El problema del PVC es que contiene más o menos 57% cloro, y esté en presencia de hidrocarburos (o sea, cualquier materia orgánica) forma dioxinas al calentarse hasta 200° C. No se puede evitar esta formación.

El otro problema es que el PVC contiene muchos metales pesados como plomo, arsénico, etc., que se necesitan agregar porque el PVC puro es una materia inflexible y débil. Al quemarse el PVC, estos metales pesados se transforman en polvo y se fugan al medioambiente donde forman otra amenaza a la salud pública. Hay bastante estudios en los EE.UU., Inglaterra, y otros países de los problemas relacionados al convivir cerca de un incinerador ^{63,64}.

Productos Químicos industriales:

Los alquilfenoles, se introdujeron en los EE.UU. en el año 1944, se usan como antioxidantes presentes en el poliestireno modificado y en el PVC, y como productos de la degradación de los detergentes, como surfactantes, en la formulación de pesticidas. El p-nonilfenol es uno de ellos y es adicionado al poliestireno y al cloruro de polivinilo (PVC), como antioxidante para que estos plásticos sean más estables y menos frágiles. Un estudio descubrió que la industria de procesamiento y envasado de alimentos utilizaba PVC, en otro se informaba del hallazgo de contaminación en agua que

había pasado por cañerías de PVC. La descomposición de sustancias químicas presentes en detergentes industriales, pesticidas y productos para el cuidado personal pueden dar origen asimismo a nonilfenol. En 1991 se publicó el primer trabajo sobre la estrogenicidad de los alquilfenoles. Tal actividad hormonal fue descubierta casualmente cuando se identificó el p-nonilfenol, un componente habitual de los tubos de poliestireno de uso en laboratorio, como contaminante estrogénico de medios y soluciones químicas. En la actualidad se sabe que los alquilfenoles con longitudes de cadena de cinco a doce átomos de carbono presentan efecto estrogénico. Los alquilfenoles son señalados como contaminantes habituales, en concentraciones elevadas y persistentes, en el agua de ríos europeos. Si se considera que la producción anual de polietoxilatos de alquilfenol supera las 300.000 toneladas métricas, no es sorprendente que algunos de sus productos de degradación con actividad hormonal sean contaminantes de ríos, aguas marítimas y aguas de bebida ^{65,66}.

Bisfenol A-BPA: Dentro del amplio grupo de los monómeros de los plásticos y los polímeros sintéticos se han descrito compuestos químicos con actividad disruptora endocrina. Tal es el caso del bisfenol-A, descrito como xenoestrógeno en 1936 ⁶⁷, si bien tal información fue pronto olvidada y tan solo redescubierta recientemente. El bisfenol-A es un contaminante habitual de alimentos, productos manufacturados y farmacéuticos, a los que se incorpora a partir de las resinas epoxi y los policarbonatos utilizados en la fabricación de los contenedores en que esos productos se comercializan. Se ha prestado una especial atención a la exposición humana infantil directa a bisfenol A a partir de los "composites" y selladores usados en la práctica odontológica. Dentro del grupo de los bisfenoles se incluye el bisfenol-F que sirve de base para la fabricación del plástico conocido como bakelita, que fue desarrollada en época tan temprana como 1909 por L.H Baekeland de quien tomó el nombre. No es aventurado suponer que ha existido una exposición histórica de importancia a tal compuesto químico. La gran extensión del uso de estos compuestos y su producción a escala industrial hace presumir que la exposición humana tanto de carác-

ter laboral como general puede ser relevante ^{68,69}.

Los parabenos: han sido descritos muy recientemente como xenobióticos estrogénicos. Se usan como preservativos en medicaciones dermatológicas, vaginales, rectales, anestésicos locales, cosmética, productos de cuidado de la piel y son agentes antibacterianos en algunos pastas dentrificas. También se encuentran en aceites industriales, grasas, pomadas para zapatos y textiles. En los alimentos se pueden encontrar en pescados marinados, mayonesa, salsas, mostaza, vegetales procesados, productos congelados, dulces y jaleas, jugos, caramelos, etc. ⁷⁰

Contaminantes Orgánicos Persistentes (POPs-Persistent Organic Pollutants)

El desarrollo de los procesos tecnológicos durante el siglo XX ha hecho posible la producción, en grandes cantidades, de una amplia variedad de nuevos materiales químicos que han beneficiado algunas actividades humanas, como la protección de cultivos o el desarrollo de procesos industriales. Entre estas nuevas sustancias se encuentran los compuestos organoclorados, grupo que incluye, entre otros, los plaguicidas (como el DDT), los PCBs (bifenilos policlorados), los HCH (hexaclorociclohexanos) y el HCB (hexaclorobenzeno). Muchos de estos productos se pueden fabricar en procesos de bajo costo y como en un principio no se creía que pudieran tener un efecto tóxico, se aplicaron amplia e indiscriminadamente. En este sentido, la síntesis del DDT fue premiada con un Nobel en 1948, debido a su eficacia y éxito como plaguicidas.

Los POPs (contaminantes orgánicos persistentes) son compuestos o mezclas de sustancias orgánicas a base de carbono que son tóxicos, persistentes y bioacumulables.

En las primeras décadas del siglo pasado, los contaminantes con propiedades tan nocivas, eran virtualmente inexistentes en el ambiente y en la comida.

Los POPs persisten en el ambiente, algunos pueden llegar a estar presente hasta después de transcurridos 100 años de su emisión. También son objeto de ciertos procesos, como por ejemplo, la migración desde regiones cálidas a otras más frías.

Exámenes llevados a cabo durante más de tres décadas en muchas partes del mundo han demostrado que el DDT o sus productos de descomposición, los DDE, y la mayoría de los POPs se encuentran presente en muchos productos alimenticios en muchas regiones, especialmente en peces, carnes y lácteos.

Debido a sus bajas solubilidades en agua y altas solubilidades en grasas, los POPs tienden a acumularse en los tejidos grasos de los organismos vivos⁷¹⁻⁷³.

No fue hasta la década de los sesenta y ochenta cuando se constataron los efectos tóxicos de estos productos a largo plazo, algunos de ellos provocan desórdenes reproductivos en la fauna salvaje, poseen actividad carcinogénica, capacidad de disrupción hormonal, etc. Estos efectos han levantado la alarma social ya que, además, debido a su persistencia frente a la degradación biológica, física y química, son difíciles de eliminar del medio y debido a la tendencia a acumularse en tejidos corporales y a su lenta excreción sus concentraciones en los organismos pueden aumentar hasta niveles tóxicos.

Por otro lado, gracias a su semivolatilidad, los compuestos organoclorados se transportan hacia sitios remotos, lejos de sus fuentes de producción y de uso originales, acumulándose en regiones frías, como las zonas árticas y alpinas.

Desde finales de la década de los setenta, la producción y el uso de casi todos los compuestos organoclorados semivolátiles está prohibido, por lo menos, muy restringido. Se los ha clasificado como "contaminantes orgánicos persistentes", POPs (Persistent Organic Pollutants) dentro del Programa de Medio Ambiente de Naciones Unidas (UNEP/GC 18/32, 1995), conjuntamente con otros contaminantes persistentes, como los PAHs (hidrocarburos aromáticos policíclicos).

A pesar de las restricciones, estos compuestos todavía están presentes en el medio ambiente y en lugares remotos, donde las concentraciones no han disminuido durante las últimas décadas.

Los estudios realizados se han utilizado para estimar un inventario atmosférico de los POPs que muestra que el hemisferio norte, donde se produjeron y utilizaron la mayoría de estos productos, contiene todavía en su atmósfera 84 toneladas, mientras que el hemisferio sur contiene 31

toneladas. Estos POPs xenobióticos forman ya parte de los ciclos biogeoquímicos y no parece que esta situación vaya a cambiar en un futuro próximo⁷⁴⁻⁷⁶.

La Llamada Docena Sucia

Se la conoce comúnmente como la docena sucia "dirty dozen", son los contaminantes más importantes sobre los que se está trabajando para su eliminación, producción y uso. En 1997, el programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) pidió que se convocase un Comité Intergubernamental de Negociación con el mandato de elaborar un instrumento internacional jurídicamente vinculante para la aplicación de medidas internacionales respecto de ciertos contaminantes orgánicos persistentes.

Se han realizado seis Comités, Montreal, 1998; Nairobi, 1999; Ginebra, 1999; Bonn, 2000; Johannesburgo, 2000; y Ginebra, 2002. Como resultado de estas sesiones se ha logrado acordar un texto de Convenio firmado oficialmente el 23 de mayo de 2001 en Estocolmo⁷⁷. (Ver tabla)

Los Policlorados Bifenilos (PCBs), las Dioxinas (PCDD) y Furanos (PCDF)

Introducidos en 1929, los PCBs se convirtieron en el primer suceso comercial de una nueva generación de ingenieros químicos que eventualmente sintetizarían algunas decenas de los miles de compuestos químicos nobles que no existían hasta ese momento en ninguna parte de la naturaleza. Los ingenieros crearon los PCBs agregando átomos de cloro a dos anillos benceno unidos, lo que se conoce con el nombre de bifenilo. Como resultado de estos estudios surge una familia de 209 compuestos químicos conocidos colectivamente como bifenilos policlorados, o PCBs, los que de inmediato demostraron ser compuestos extremadamente útiles.

En los primeros estudios realizados, los PCBs parecían estar llenos de virtudes y ser carentes de todo defecto. Son no inflamables y extremadamente estables. Los estudios toxicológicos desarrollados en ese momento no identificaron ningún efecto peligroso. Confiados en su seguridad y utilidad, la

Plaguicidas:	Químicos industriales:	Derivados generados por combustion
1. DDT 2. Aldrin 3. Dieldrin 4. Endrin 5. Clordano 6. Heptacloro 7. Hexaclorobenceno 8. Mirex 9. Toxafeno	10. Bifenilospoliclorados (PCBs)	11. Dioxinas 12. Furanos

Physician for Social Responsibility(PSR), vol.13 N1.1998

Compañía Química Swan, la que pronto fue parte de la Compañía Química Monsanto en 1935, rápidamente los comenzó a producir y los lanzó al mercado.

Gracias a la regulación federal que requería la utilización de compuestos refrigerantes no inflamables en los transformadores empleados dentro de los edificios, los PCBs rápidamente encontraron un gran mercado cautivo en la industria eléctrica. Otras industrias pusieron a los PCBs como lubricantes, fluidos hidráulicos y como líquidos sellantes. En esos momentos, también encontraron ciertas cualidades para productos de consumo masivo y así se introdujeron en los hogares.

Hicieron que la madera y el plástico no sean inflamables, preservaron y protegieron distintos tipos de gomas y que el estuco sea resistente al agua. Pasaron a formar parte de pinturas, barnices, tintas, y pesticidas. Cada característica que convirtió a estos compuestos en sucesos comerciales hicieron que sean unos de los contaminantes del medio ambiente más peligrosos.

Las dioxinas y furanos constituyen una familia de 219 compuestos químicos tóxicos diferentes, todos con características similares pero potencialidades diferentes. Este es el grupo de los PCDD (policlorados dibenzo-p-dioxinas) y los PCDF (policlorados dibenzofuranos). Al igual que los PCBs poseen dos anillos benceno unidos. En el caso de los PCDDs, los anillos benceno se encuentran unidos mediante dos átomos de oxígeno, mientras que en los PCDFs

los anillos se encuentran unidos por un sólo átomo de oxígeno. Los átomos de hidrógeno unidos a los de carbono, se pueden encontrar sustituidos por un átomo de cloro. Son subproductos derivados de los procesos térmicos y de formulaciones químicas.

Se encuentran en algunos hidrocarburos clorados, ellos se forman durante la producción de dicloroetileno (EDC) que es usado para producir cloruro de vinilo, el precursor del policloruro de polivinilo (PVC), constituyente principal de los plásticos.

Las Dioxinas son el arquetipo de los toxiquímicos, una sustancia altamente cancerígena y teratogénica. Alcanzaron los niveles más altos de visibilidad en Vietnam por el uso del agente naranja, pero continúa generando problemas en el medio ambiente que captura la atención pública, caso Times Beach, Seveso, Love Canal, desechos, incineración y el cloro para decolorar papel.

Después de muchos estudios se conoce que no sólo es un potente cancerígeno sino que aparece como una persistente hormona sintética perturbando importantes sistemas de señales biológicas en el cuerpo, alterando el desarrollo, la diferenciación y la regulación celular. Tal vez la problemática más común sea la posibilidad de efectos en la reproducción y el desarrollo. Este fenómeno se ha observado en los peces de los grandes lagos en América del Norte. Este hallazgo sugiere que el medio ambiente todavía contiene estos compuestos.

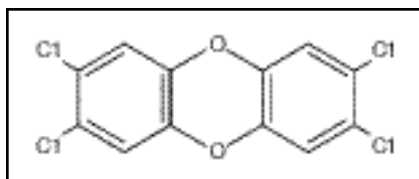
Dioxinas, Furanos y PCBs. Principales Congéneres.

La EPA (Environmental Protection Agency USA) Agencia del Programa Ambiental concluyó e hizo público que el 2,3,7,8 TCDD (tetraclorodibenzo-p-dioxin) es carcinógeno. La demostración que estos compuestos tenían esta acción carcinogénica fue el mayor desafío desde la reevaluación de desde 1994. Cuatro de los diecisiete congéneres tóxicos de CDD/CDF (clorados dibenzodioxinas/dibenzofuranos) y uno de los 11 PCBs son los de mayor acción toxica en tejidos humanos (Fig. 9). Estos cinco alcanzan aproximadamente el 80% del TEQ (factor de Equivalencia Tóxica) total en el tejido humano:

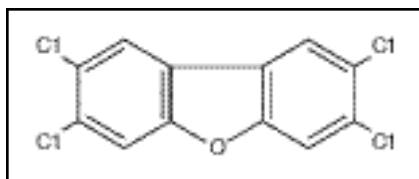
2,3,7,8	TCDD
1,2,3,7,8	PCDD
1,2,3,6,7,8	HxCDD
2,3,4,7,8	PCDF
PCB 126	

Algunas dioxinas son más tóxicas que otras, y el sistema TEQ considera las variaciones de la toxicidad y la expresa en términos de la dioxina más tóxica, que es la TCDD.

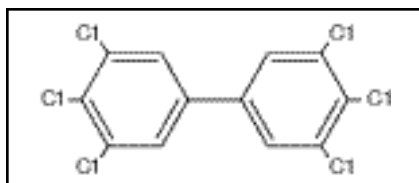
Figura 9



2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin



2,3,7,8- Tetrachlorodibenzofuran



3,3',4,4',5,5'- Hexachlorobiphenyl

La EPA acordó que el efecto tóxico de las dioxinas incluye: letalidad, atrofia gonadal/linfoidea, hiperplasia, metaplasia, disrupción endocrina, carcinogenicidad, toxicidad reproductiva y de desarrollo, toxicidad dermal, inmunotoxicidad, neurotoxicidad, toxicidad hepática y hepaticavascular; y que los efectos de la exposición a dioxinas en la población humana se manifiestan en enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, porfiria, endometriosis, testosterona disminuida, y efectos en el desarrollo incluyendo cambios en el status del sistema inmune y tiroideo, en el neurocomportamiento, características cognitivas, en la dentición y caracteres sexuales alterados.

La US-EPA propone una dosis virtualmente segura de 0,0064 pg TEQ/kg peso/día (McLachlan 1993, Patandin 1999 a).

El PCBs se transfiere por la lactancia y altera el desarrollo del niño. El nivel de exposición disminuye después del nacimiento, de cualquier manera el niño está todavía más expuesto que el adulto.

El TEQ para niños es 110-120 pg kg/día durante los primeros 6 meses de vida, disminuye a 6-7 pg kg/día entre los primeros 5 años y continúa disminuyendo hasta la adultez.

Los niños alimentados con leche materna, en los Estados Unidos o en cualquier otro país industrializado pueden llegar a consumir un promedio de 35-53 pg Teq/kg/día de dioxinas durante el primer año de vida. Los valores mencionados anteriormente superan varias veces los valores de ingesta en niños de países no industrializados ⁷⁹.

Los datos recogidos por la EPA del Inventario de Liberación Toxica (TRI), indican que 99,814 gr. (cerca de 1,100 gr. TEQ) de dioxinas fueron liberados al ambiente por las industrias de manufactura y procesos en el año 2000. Un gramo TEQ de dioxina excede la ingesta diaria aceptable para más de 40 millones de personas por año. (EPA, mayo 23, 2002)

El medio predominante de transporte de dioxinas y PCBs es la atmósfera. Pueden llegar al aire ya sea mediante la forma de vapor o aerosol que se producen especialmente durante los procesos poco eficientes de incineración o durante la incineración de materiales que contengan PCBs. Cuanto más átomos de cloro poseen los PCBs y las dioxinas, son más insolubles con lo que permanecen asociadas al suelo. Cuanto menor es la cantidad de cloro, tienen

una pequeña solubilidad en agua, con lo que probablemente se adhieran al sedimento y sean arrastradas aguas abajo.

Exposición de PCBs, Dioxinas y Furanos

La población humana está expuesta a los PCBs y dioxinas de las siguientes formas: Accidental, Ocupacional y Ambiental.

Comparadas con los niveles de exposición ambiental, los niveles de exposición que corresponden a los dos primeros grupos son significativamente elevados. Las dioxinas y los PCBs se encuentran en la sangre humana, incluyendo además el tejido adiposo y los lípidos de la sangre. Atraviesan la placenta y se transfieren, también, a la materia grasa de la leche.

Los altos niveles de exposición pueden estudiarse en los empleados que trabajan, por ejemplo, en las fábricas de PCBs o en las que se fabrican productos que contienen PCBs. En estos casos, la exposición es, principalmente, a través de la piel y por inhalación.

La mayor exposición a la contaminación ambiental (más del 90%) es por la ingesta de comida contaminada, y en estos casos la absorción es casi total.

También se sabe que las exposiciones a bajos niveles de dioxinas interfieren con el sistema inmune, el sistema reproductor, el sistema endocrino, el crecimiento temprano y desarrollo de humanos y animales, por lo que las dioxinas son una familia de contaminantes muy potentes.

DDT

El DDT (diclorodifeniltricloroetano) ha tenido por décadas un rol principal en los esfuerzos para combatir la malaria y otras enfermedades. Se lo utilizó contra la malaria con resultados iniciales sorprendentes. No obstante, la malaria sigue siendo una amenaza global, actualmente, aproximadamente 2,5 millones de personas en más de 90 países están en riesgo de contraer esta enfermedad. Es la principal causa de enfermedad y muerte en los países en desarrollo, en estos lugares del mundo se producen

anualmente 3 millones de muertes y hasta 500 millones de casos clínicos. El mayor número de las muertes ocurre en África y afecta a más de la mitad de los niños de menos de cinco años de edad, la malaria mata cuatro chicos por minuto o 5.000 por día.

Por ejemplo, las investigaciones realizadas en México y Sud África han revelado que los niveles DDE en leche materna exceden los límites que un niño puede recibir por día (valores recomendados por OMS). Además, los estudios han demostrado que el período de lactancia se acorta (tiempo de producción de leche) cuanto mayor es la concentración de DDE en la madre, lo que priva a los infantes de los beneficios dados por la leche materna y el hecho de ser amamantados.

Existen conexiones entre el DDT y efectos reproductivos e inmunotóxicos en la vida silvestre y en el hombre, producido por las alteraciones químicas de las hormonas sexuales y de otros mensajeros químicos del organismo ^{80,81}.

Lindano

El lindano, g-HCH [hexaclorociclohexano], se lo ha utilizado por 50 años como insecticida, tiempo suficiente para tener todas las evidencias necesarias sobre su toxicidad y su peligrosidad ambiental.

Esta sustancia ha causado muertes e intoxicaciones en humanos y está reconocida por tener efectos prolongados sobre la salud, entre los que se incluye el cáncer. Es un importante contaminante ambiental además de ser directamente tóxico sobre todo tipo de vida. El lindano se bioacumula en la cadena alimentaria.

Hay evidencia suficiente que vincula el lindano con serios problemas de salud, los que incluyen anemia aplástica, cáncer de mama y el Síndrome C.H.A.R.G.E ⁸².

Este pesticida se utiliza en el tratamiento contra los piojos y sarna en humanos y también en ciertos tratamientos veterinarios para combatir parásitos.

En un estudio realizado por Davis, se demostró el significativo incremento de cáncer de cerebro en chicos que habían sido tratados con shampoo que contenía en su composición química lindano. El uso

veterinario de este compuesto en ovejas causa contaminación tanto de la lana como de la leche y la carne.

Entre los años 1972 y 1988 hubo 88 niños intoxi-

cados por Lindano ⁸³. Por esta circunstancia el gobierno de California USA prohibió su uso para el tratamiento de piojos y escabies a partir de enero de 2002.

Bibliografía

1. Olea, N. y col. Inadvertent exposure to xenoestrogens in children. *Toxicol. Industrial Health* 15: 151-158, 1999.
2. Colborn, T.; Clements, C. (eds) 1992 *Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human Connection*. Princeton Scientific Publishing, Princeton, NJ.
3. McLachlan, J.A. (ed) 1980. *Estrogens in the environment*, Elsevier, New York.
4. Davies, D.L.; Bradlow, H.L.; Wolff, M. y col. 1993 *Medical Hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer*. *Environ. Health Perspectives* 101:372-377
5. Danzo, B.J. 1998. The effects of environmental Hormones on reproduction. *Cell Mol Life Sci* 54:1249-1264
6. Cheek, A.O.; McLachlan, J.A. 1998 *Environmental Hormones and the male reproductive system*. *J.Androl* 19:5-10
7. Knobil, E. Chair Committee on Hormonally Active Agents in the Environment 1999 *Hormonally Active Agents in the Environment*, National Research Council, Washington ,DC.
8. Cheek, A.O.; Vonier, P.M.; Oberdorster, E. y col. 1998 *Environmental Signaling, a biological context for endocrine disruption*. *Environ. Health Perspect.* 106 (Suppl1):5-10.
9. Statement from the work session on health effects of contemporary-use pesticides: the wildlife/human connection. *Toxicol Industrial Health* 15:1-5, 1999.
10. Gassner/FX; Reifenstein Jr. E.C. 1958. Effects of hormones on growth, fattening and meat production potential of live stock. *Recent Prog. Horm. Res.* 14:183-217
11. Hertz, R. 1985. The Estrogen problem-retrospect and prospect. In: McLachlan JA 8ed). *Estrogens in the Environment. II. Influences on Development*. Elsevier Science Publishing Co., Inc, New YR.York, pp.1-11.
12. R.Carson. *Silent Spring*. Boston, Houghton Mifflin, 1962.
13. *Dioxins and Health*. 1994. Arnold Schecter. Ed. Plenum Press.
14. Theo Colborn, John Peterson Myers, Dianne Dumanoski. *Our Stolen Future*. 1996. Dutton, New York.
15. Krimsky , S. 2000. *Hormonal Chaos. The Scientific and Social Origins of the Environmental Endocrine Hypothesis*. Johns hopkins University Press, Baltimore, MD.
16. Fernández, M.F. y col. *Estrogens in the Environment: is there a breast cancer connection?*. *Cancer J.*11:11-17, 1998
17. Wolff, M.S. y col. *Blood levels of organochlorines residues and the risk of breast cancer*. *J Natl Cancer Inst.* 85:648-652, 1993
18. Hoyer , A.P. y col. *Organochlorine exposure and risk of breast cancer*. *Lancet* 352:1816-1820, 1998
19. Moysich, K.B. y col. *Environmental organochlorine exposure and postmenopausal breast cancer risk*. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 7:181-188, 1998.
20. Cook, J.W.; Dodds, E.C.; Hewett, C.L. 1933 *A synthetic oestrus-exciting compound*. *Nature* 131:56-57
21. Dodds, E.C.; Lawson, W . 1936 *Synthetic oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus*. *Nature* 137:996
22. Dodds, E.C.; Goldberg, L.; Lawson, W. y col. 1938 *Oestrogenic activity of certain synthetic compounds*. *Nature* 141:247-249
23. Eroschenko, V.P.; Palmitter, R.D. 1980 *Estrogenicity of kepone in birds and mammals*. In: McLachlan JA (ed) *Estrogens in the Environment*. Elsevier/North Holland, New York, pp 305-326

24. Burlington, H.; Lindman, V.F. 1950 Effect of DDT on testes and secondary sex characters of white Leghorn cockerels. *Proc Soc Exp Biol Med* 74:48-51
25. Welch, R.M.; Levin, W.; Conney, A.H. 1969 Estrogenic action of DDT and its analogs. *Toxicol Appl Pharmacol* 14:358-367
26. Kupfer, D.; Bulger, W.H. 1980 Estrogenic properties of DDT and its analogs. In: McLachlan JA (ed) *Estrogens in the Environment*. Elsevier/North Holland, New York, pp 239-264
27. Korach, K.S.; Sarver, P.; Chae, K. y col. 1988 Estrogen receptor-binding activity of polychlorinated hydroxybiphenyls: conformationally restricted structural probes. *Mol Pharmacol* 33:120-126
28. Mueller, G.C.; Kim, U.H. 1978 Displacement of estradiol from estrogen receptors by simple alkyl phenols. *Endocrinology* 102:1429-1435
29. McLachlan, J.A. 1993 Functional toxicology: a new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environ Health Perspect* 101:386-387
30. Muramatsu, M.; Inoue, S. 2000 Estrogen receptors: how do they control reproductive and non-reproductive functions? *Biochem Biophys Res Commun* 270:1-10
31. Kuiper, G.G.; Enmark, E.; Peltö-Huikko, M. y col. 1996 Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:5925-5930
32. Knight, W.M. 1980 Estrogens administered to food producing animals: environmental considerations. In: McLachlan JA (ed) *Estrogens in the Environment*. Elsevier/North-Holland, New York, pp 391-402
33. Metzler, M. 1976 Metabolic activation of carcinogenic diethylstilbestrol in rodents and humans. *J Toxicol Environ Health [Suppl 1]*:21-35
34. Metzler, M. 1976 Metabolic activation of carcinogenic diethylstilbestrol in rodents and humans. *J Toxicol Environ Health [Suppl 1]*:21-35
35. Lagana, A.; Bacaloni, A.; Fago, G. y col. 2000 Trace analysis of estrogenic chemicals in sewage effluent using liquid chromatography combined with tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 14:401-407
36. Harries, J.E.; Sheehan, D.A.; Jobling, S. y col. 1997 Estrogenic activity in five United Kingdom rivers detected by measurement of vitellogenesis in caged male trout. *Environ Toxicol Chem* 16:534-542
37. Ternes, T.A.; Stumpf, M.; Mueller, J. y col. 1999 Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants. I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci Total Environ* 225:81-90
38. Belfroid, A.C.; Van der Horst, A.; Vethaak, A.D. y col. 1999 Analysis and occurrence of estrogenic hormones and their glucuronides in surface water and waste water in The Netherlands. *Sci Total Environ* 225:101-108
39. Irwin, L.K.; Oberdoerster, E. 2001 Vitellogenin induction in painted turtle, *Chrysemys picta*, as a biomarker of exposure to environmental levels of estradiol. *Aquatic Toxicol*, in press
40. Sonnenschein, C.; Weiller, S.; Farookhi, R. y col. 1974 Characterization of an estrogen-sensitive cell line established from normal rat endometrium. *Cancer Res* 34:3147-315
41. Sonnenschein, C.; Soto, A.M. 1980 But ... are estrogens per se growth-promoting hormones? *J Natl Cancer Inst* 64:211-215
42. Berthois, Y.; Katzenellenbogen, J.A.; Katzenellenbogen, B.S. 1986 Phenol red in tissue culture media is a weak estrogen: implications concerning the study of estrogen-responsive cells in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2496-2500.
43. Bindal, R.D.; Katzenellenbogen, J.A. 1988 Bis (4-hydroxyphenyl)[2-(phenoxy-sulfonyl)phenyl] methane: isolation and structure elucidation of a novel estrogen from commercial preparations of phenol red (phenolsulfonphthalein) [published erratum appears in *J Med Chem* 1989 Dec;32(12):2582]. *J Med Chem* 31:1978-1983
44. Soto, A.M.; Justicia, H.; Wray, J.W. y col. 1991 p-Nonyl-phenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environ Health Perspect* 92:167-173
45. Sumpter, J.P.; Jobling, S. 1993 Male sexual development in "a sea of oestrogen." *Lancet* 342:124-125
46. Feldman, D.; Do, Y.; Burshell, A. y col. 1982 An estrogen-binding protein and endogenous ligand in *Saccharomyces cerevisiae*: possible hormone receptor system. *Science* 218:297-298
47. Krishnan, A.V.; Stathis, P.; Permuth, S.F. y col.

- 1993 Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology* 132:2279-2286
48. Setchell, K.D.; Gosselin, S.J.; Welsh, M.B. y col. 1987 Dietary estrogens—a probable cause of infertility and liver disease in captive cheetahs. *Gastroenterology* 93:225-233
49. Thigpen, J.E.; Setchell, K.D.; Ahlmark, K.B. y col. 1999 Phytoestrogen content of purified, open- and closed-formula laboratory animal diets. *Lab Anim Sci* 49:530-536
50. Thigpen, J.E.; Li, L.A.; Richter, C.B. y col. 1987 The mouse bioassay for the detection of estrogenic activity in rodent diets. II. Comparative estrogenic activity of purified, certified and standard open and closed formula rodent diets. *Lab Anim Sci* 37:602-605
51. Powell-Jones, W.; Raeford, S.; Lucier, G.W. . 1981 Binding properties of zearalenone mycotoxins to hepatic estrogen receptors. *Mol Pharmacol* 20:35-42
52. Sheehan, D.M.; Branham, W.S.; Medlock, K.L. y col. 1984 Estrogenic activity of zearalenone and zearalanol in the neonatal rat uterus. *Teratology* 29:383-392
53. Meronuck, R.A.; Garren, K.H.; Christensen, C.M. y col. 1970 Effects on turkey poults and chicks of rations containing corn invaded by *Penicillium* and *Fusarium* species. *Am J Vet Res* 31:551-555
54. Roine, K.; Korpinen, E.L.; Kallela, K. 1971 Mycotoxicosis as a probable cause of infertility in dairy cows. *Nord Vet Med* 23:628-633
55. Bristol, F.M.; Djurickovic, S. 1971 Hyperestrogenism in female swine as the result of feeding mouldy corn. *Can Vet J* 12:132-135
56. Finkelstein, J.S.; McCully, W.F.; MacLaughlin, D.T. y col. 1988 The mortician's mystery. Gynecomastia and reversible hypogonadotropic hypogonadism in an embalmer. *N Engl J Med* 318:961-965
57. Silva, E.; Rajapakse, N. 2002. Something from "Nothing" eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs product significant effects. *Environmental Science and Technology*. In Press.
58. Alcock, R.E. (1998) Dioxin-like PCBs in the environment-Human exposure and the significance of sources, *Chemosphere*, 37, 1457-1472.
59. Dyke, P.H. (1997) Releases of PCBs to the UK Environment, Report to the UK Department of Environment, Transport and the Regions, AEAT Report 2731.
60. Darnerud y col. 1998. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from primiparous women in Uppsala country Sweden. *Organohalogen Compounds* 35, p411-414
61. Sjorden y col. 1999. Flame retardant exposure polybrominated diphenylethers in blood from Swedish workers *EHP*. 107-p643-648.
62. Allchin y col. 1999. Polybrominated diphenylethers in sediments and biota downstream of potential sources in the UK *Environmental Pollution* 105, p197-207.
63. Davis, B.J. y col. Di-(2-ethylhexyl) phtalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 128:216-223(1994).
64. Gray, T.J.B. and Gangolli, S.D. Aspects of the testicular toxicity of phtalate esters. *EHP*. 65:229-235(1986)
65. Ginsburg, J. 1994. Residence in the London area and sperm density. *The Lancet* 343:230.
66. Dalgaard, M. y col. In utero exposure to diethylstilboestrol or 4-n-nonylphenol in rats: number of sertoli cells, diameter and length of seminiferous tubules estimated by stereological methods. *Pharmacol Toxicol*. 2002 Feb;90(2):59-65
67. Dodds, E.C.; Lawson, W. Synttetic Estrogenic Agents without the phenanthrene nucleus. *Nature* 13:996 (1936)
68. Reid, E.E.; Wilson, E. The relation of estrogenic activity to structure in some 4,4-dihidroxidifenilmetano. *J. Am. Chem. Soc.* 66:967-969 (1944)
69. Brotons, J.A.; Olea-Serrano, M.F.; Villalobos, M. y col. Xenoestrogens released from lacquer coating in food cans. *Environ. Health Perspect*. 103:608-612.1995.
70. Oishi, S. Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicol Ind Health*. 2001 Feb;17(1):31-9.
71. Wilhelm y col. Dietary intake of persistent organic pollutants (POPs) by German children using duplicate portion sampling. *Int J Hyg Environ Health*. 2002 Feb;204(5-6):359-62.
72. Lindell, M.J.; Bremli, G. y col. Monitoring of persistent organic pollutants (POPs): examples

- from Lake Vattern, Sweden. *Ambio*. 2001 Dec;30 (8):545-51.
73. Sexual Maturation in Relation to Polychlorinated Aromatic Hydrocarbons: Sharpe and Skakkebaek's Hypothesis Revisited. Elly Den Hond y col. *EHP*. Vol.110.N8,2002
74. F. Wania y D. Mackay: "Tracking the distribution of persistent organic pollutants", *Environmental Science and Technology* 1996; 30 (9): 390- 396.
75. Barend, L.; van Drooge, J.O.; Grimalt, C.J. "Deposition of semivolatile organochlorine compounds in the free troposphere of the eastern north Atlantic Ocean", *Marine Pollution Bulletin*, 2001; 42 (8): 628-634.
76. Barend L. van Drooge, J.O. Grimalt, C.J. "Semivolatile Organochlorine Compounds in the free troposphere of the North-Eastern Atlantic" *Environmental Science and Technology*, 2002; 36 (6): 1155-1161
77. <http://irptc.unep.ch/pops>
78. Dietary exposure of PCBs and Dioxins in children *EHP*. Vol.107.N1. January 1999
79. Hazard and Risk Assessment of Chemical Mixtures Using the Toxic Equivalency Factor Approach. Stephen Safe. *EHP*106(Suppl4):1051-1058(1998)
80. Hardell, L. y col. Is DDT exposure during fetal period and breast-feeding associated with neurological impairment? *Environ Res*. 2002 Mar;88 (3):141-4.
81. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): Ubiquity, Persistence, and Risks. Vladimir Turusov y col. *EHP*110:125-128(2002)
82. The CHARGE Association: How well can they do? E. Goldson; *Am. J. Dis. Child*. 140:918- 921 (1986). Who's in CHARGE?. Multidisciplinary management of patients with CHARGE Association. KD Blake. *Arch. Dis. Child*. 65:217-223(1990)
83. Nyitrai, G.; Kekesi, K.A. y col. Neurotoxicity of lindane and picrotoxin: neurochemical and electrophysiological correlates in the rat hippocampus in vivo. *Neurochem Res*. 2002 Feb;27(1-2):139-45.

"Los hechos no dejan de existir por ignorarlos".

ALDOUS HUXLEY