

# **PROGRAMA**

**27 NOVIEMBRE JUEVES**(Recogida de documentación disponible desde las **10.00 am**)

**15.30** Bienvenida de la Organización y presentación de los Presidentes de las Sociedades participantes.

---

**15.45 Sesión 1. Bases científicas. Mecanismos moleculares y celulares de xenoestrógenos.**

---

Coordina:

**Victoria Carrera González.** Universidad Miguel Hernández.**Olivia Castillo.** Ministerio Sanidad y Consumo

15,50 Nuevos mecanismos de acción. El ejemplo del bisfenol-A

**Angel Nadal Navajas.** Universidad Miguel Hernández.

16,10 Efectos de disruptores endocrinos alquilfenólicos sobre tejidos hormonalmente regulados: hepatotoxicidad.

**Luis Dominguez Boada.** Universidad de Las Palmas de Gran Canarias

16,30 El eje hipotalámico-hipofisario-gonadal, blanco de muchos perturbadores neuroendocrinos. El ejemplo del cadmio.

**M<sup>a</sup> Anunciación Lafuente Gimenez.** Univ. de Vigo. Campus Orense

16,50 Discusión

---

17.00 Descanso

**17.10 Sesión Carteles. Sección A con presencia de los autores**

---



---

**17,45 Sesión 2. Los ensayos "in vitro" e "in vivo" para evaluación toxicológica.**

---

Coordina:

**Elina Valcerce de Angulo.** Coordinadora Nacional de Métodos de Ensayo de la UE y OCDE. Ministerio de Sanidad y Consumo.**Miguel Angel Sogorb** Universidad Miguel Hernández de Elche

17,50 Los métodos alternativos: previsiones del ECVAM

**Argelia Castaño Calvo.** Comité Científico ECVAM-UE. CISA-INIA

18,10 Tendencias en el desarrollo de métodos alternativos

**J. Vicente Castell Ripoll.** Vicepresidente de ECOPA. C.I. Hospital La Fe

18,30 Discusión

---

Continúa

27 NOVIEMBRE JUEVES (Continuación)

---

18,45 **Sesión 3. Efectos ambientales**

---

Coordina:

**Eduardo de la Peña de Torres.** Centro Ciencias Medioambientales. CSIC.

**Pilar Gascó Alberich.** Instituto Nacional de Toxicología

18,50 Disruptores endocrinos en ecosistemas acuáticos. El ejemplo de la exposición de cetáceos a disruptores endocrinos

**Matilde Carballo.** INIA

19,10 Imposex como biomarcador de contaminación por TBT

**Rodolfo Barreiro.** Universidad de la Coruña

19,30 Efectos de los xenoestrógenos en organismos modelo: importancia del estadio de desarrollo y de la vía de exposición

**Miren P. Cajarville.** Universidad del País Vasco

19,50 Discusión

---

Fin sesiones día 27 nov

## 28 NOVIEMBRE (VIERNES)

---

### 9,30 Sesión 4. Datos en humanos y estudios epidemiológicos

---

Coordina:

**Ferran Ballester.** Escuela Valenciana de Estudios para la Salud EVES

**Francisco Vargas.** Ministerio de Sanidad y Consumo. Epidemiología

- 9,30 Compuestos organoclorados y desarrollo endocrino  
**Miguel Porta y Nuria Ribas.** Instituto Municipal de Investigaciones Médicas IMIM
- 09,50 Estimación cuantitativa de la exposición a xenoestrógenos en cáncer de mama  
**Jesús Ibarluzea.** Subdirección de Salud Pública de Guipuzkoa
- 10,20 De los resultados de investigación a la aplicación práctica. Campaña de disruptores endocrinos de ISTAS  
**Estefanía Blount Martín.** Instituto Sindical del Trabajo, Ambiente y Salud ISTAS-CCOO
- 10,30 Discusión.

---

11,00 Descanso

11.15 Sesión Carteles. Sección B con presencia de los autores

---

28 NOVIEMBRE VIERNES (Continua)

**12.00 Sesión 5. La Unión Europea: Política de investigación en disruptores endocrinos y proyectos con grupos españoles.****Nicolás Olea Serrano.** Universidad de Granada

- 12.00 La política científica europea de disruptores endocrinos  
**Peter Pärt.** JRC Joint Research Centre
- 12.30 Proyecto GENDISRUPT  
**Jesús del Mazo Martínez.** Centro de Investigaciones Biológicas , CSIC Madrid
- 12.40 Proyecto EDEN. Endocrine Disrupters: Exploring Novel Endpoints, Exposure, Low-Dose and Mixture-Effects in Humans, Aquatic Wildlife and Laboratory Animals  
**Manuel Tena-Sempere.** Universidad de Córdoba
- 12.50 Proyecto COMPRENDO. Comparative Research on Endocrine Disrupters  
**Ramón Lavado Parra, Cinta Porte.** CID-CSIC Barcelona
- 13.00 Proyecto EURISKED.  
**Jesús A Fernández Tresguerres.** Universidad Complutense de Madrid
- 13.10 Proyecto CASCADE. Chemicals as contaminants in the food chain: An NoE for research, risk assessment and education  
**Mariana Fernández.** Universidad de Granada
- 13.20 Discusión general Finalizar 13.55

**13.30 Creación del Grupo de Trabajo Español en Disruptores Endocrinos**

1. Presentación. Eugenio Vilanova
2. Elección de una mesa coordinadora
3. Discusión sobre los objetivos de un grupo de trabajo
  - ¿Diferenciar riesgos humanos de medioambientales?
  - ¿Actividad científicas, jornadas futuras, proyectos de investigación?
  - ¿Acciones reguladoras? ¿Evaluación de sustancias?
4. Vinculación con Sociedades promotoras (AETOX, SESA, otras)
5. Propuesta de una Comisión Coordinadora

14,30 Conclusiones.

14.45 Fin de la Jornada.

## CARTELES

P01

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS (DDT Y DERIVADOS) EN 685 INDIVIDUOS REPRESENTATIVOS DE LA POBLACIÓN CANARIA

*O.P. Luzardo<sup>1</sup>, M. Zumbado<sup>1</sup>, M. Goethals<sup>1</sup>, F. Cabrera<sup>1</sup>, C. Crespo<sup>1</sup>, L. Serra<sup>2</sup>, E. Álvarez<sup>3</sup> y L.D. Boada<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Unidad de Toxicología, <sup>2</sup>Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública, Dpto. de Ciencias Clínicas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>3</sup> Servicio de Medicina Preventiva. Complejo Hospitalario Materno-Insular de Gran Canaria, Servicio Canario de Salud

P02

EVIDENCIAS DE DISRUPCIÓN ENDOCRINA EN CARPAS DEL RÍO EBRO

*Ramón Lavado, Rebeca Martín, Cinta Porte*

Química Ambiental, IIQAB-CSIC. C/Jordi Girona, 18. Barcelona.

P03

RELACIÓN DEL USO DE PLAGUICIDAS CON EFECTO XENOESTROGÉNICO EN LA PROVINCIA DE ALMERÍA

*Raquel Alarcón Rodríguez, Carlos Parrón Carrillo, Tesifón Parrón Carreño*

Delegación de Salud de Almería. Junta de Andalucía.

raquelalarcon@ozu.es, tesifon.parron@juntadeandalucia.es

P04

EFFECTS OF NONYLPHENOL EXPOSURE – GONADAL HISTOLOGY AND VITELLOGENIN INDUCTION IN CRUCIAN CARP (*Carassius carassius*)

*M.S. Diniz(1), I. Peres1 and J.C. Pihan(2)*

1Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Dep. de Ciências e Engenharia do Ambiente, Quinta da Torre – 2825 Monte da Caparica, Portugal

2Université de Metz – Laboratoire Biodiversité et Fonctionnement des Écosystèmes

Campus Bridoux – 57070 Metz Borny, France

P05

SCREENING ENDOCRINE DISRUPTORS COMPOUNDS IN A PORTUGUESE WASTEWATER TREATMENT PLANT USING ENZYME LINKED IMMUNOASSAY (ELISA).

*Maurício, R., Diniz, M., Amaral, L., Peres, I., Santana, F.*

Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Dep. de Ciências e Engenharia do Ambiente, Quinta da Torre – 2825 Monte da Caparica, Portugal

P06

RESUMEN DEL INFORME FINAL UE

“ESTUDIO SOBRE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN EL AGUA DE BEBIDA”

1ª PARTE. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO.

*Jaime Roset Álvarez, Francisco Marqués Marqués, Remedios Hernández Hernández, Elena Ordaz Castillo y Margarita Palau Miguel.*

Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. Madrid. [jroset@msc.es](mailto:jroset@msc.es)

P07

RESUMEN DEL INFORME FINAL UE “ESTUDIO SOBRE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN EL AGUA DE BEBIDA”

2ª PARTE. RESULTADOS DE LA ENCUESTA A LOS ABASTECEDORES Y CONCLUSIONES GENERALES DEL ESTUDIO.

*Jaime Roset Álvarez, Francisco Marqués Marqués, Remedios Hernández Hernández, Elena Ordaz Castillo y Margarita Palau Miguel.*Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. Madrid. [jroset@msc.es](mailto:jroset@msc.es)

P08

CUANTIFICACION DEL RESIDUO DE BISFENOL-A Y DE LOS FTALATOS DBP Y DEHP EN MUESTRAS DE PAPEL RECICLADO Y MEDIDA DE ACTIVIDAD HORMONAL ESTROGÉNICA

*JM Molina-Molina<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, P Araque<sup>1</sup>, C López<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, B. Ramos<sup>4</sup> N Olea<sup>1</sup>.*<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Química-Física.<sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE <sup>4</sup>OCU-Compra Maestra, Madrid. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P09

EVOLUCIÓN DE LA CARGA ESTROGÉNICA (TEXB) Y DEL RESIDUO DE ORGANOCOLORADOS EN TEJIDO ADIPOSO Y SUERO EN EL CURSO DEL TRATAMIENTO EN CÁNCER DE MAMA.

*P Araque<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, I Cerrillo<sup>1</sup>, JM Molina-Molina<sup>1</sup>, F Huertas<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup> V Pedraza<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Cirugía. Hospital Clínico San Cecilio. Granada.<sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P10

EXPOSICIÓN MATERNO INFANTIL A DISRUPTORES ENDOCRINOS: SUSTANCIAS QUÍMICAS CON EFECTO ESTROGÉNICO EN PLACENTAS DE MADRES DANESAS

*J Carreño<sup>1</sup>, JM Molina-Molina<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, MI Gonzalez<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, AM Anderson<sup>2</sup> N Olea<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>University Hospital, Copenhagen. Dinamarca. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P11

PRESENCIA DE PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS EN LA POBLACIÓN MASCULINA JOVEN EN EL SURESTE PENINSULAR

*J Carreño<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, M Fernández<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, I Durán<sup>2</sup>, MD Cruz<sup>2</sup>, C Avivar<sup>2</sup>, N Olea<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Laboratorio Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio, Granada. <sup>2</sup>Unidad de Biotecnología. Hospital de Poniente, Almería. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P12

RIESGO DE EXPOSICIÓN LABORAL DE LOS CUERPOS DE PREVENCIÓN Y EXTINCIÓN DE INCENDIOS (SEPEI) A DISRUPTORES ENDOCRINOS.

*C Carvajal Rodríguez C<sup>1</sup>, M Mariscal Arcas<sup>1</sup>; M Martín Matilla<sup>1</sup>, M Jiménez Torres<sup>1</sup>, I Cerrillo García<sup>1</sup>, F Olea Serrano<sup>1</sup>*<sup>1</sup>Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. [folea@ugr.es](mailto:folea@ugr.es)

P13

EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN LA POBLACIÓN FEMENINA DEL SURESTE PENINSULAR. INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EL ESTILO DE VIDA.

*I Cerrillo<sup>1</sup>, P Araque<sup>1</sup>, M Fernández<sup>1</sup>, M Jiménez<sup>1</sup>, P Torné<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Cirugía General. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P14

PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL

*A Granada<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, C López<sup>3</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, A Caño<sup>2</sup>, M Bernal<sup>2</sup>, F Olea<sup>4</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Química-Física. <sup>4</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P15

INFLUENCIA DE LA DIETA DE MUJERES EMBARAZADAS SOBRE EL CONTENIDO DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS Y ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (AGPIS) EN LA LECHE HUMANA

*M Jiménez<sup>1</sup>, A Jerez<sup>2</sup>, JM<sup>a</sup> Díaz<sup>2</sup>, P Araque<sup>1</sup>, F Olea<sup>3</sup>, Campoy C<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Dpto. de Pediatría. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. Dpto. de Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P16

ACTIVIDAD ESTROGÉNICA DEBIDA A DISRUPTORES ENDOCRINOS EN TEJIDO PLACENTARIO OBTENIDO EN EL HOSPITAL CLÍNICO DE GRANADA.

*MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, JM Molina-Molina<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, J Carreño<sup>1</sup>, JM Fernández<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P17

¿SON LOS ANABOLIZANTES Y OTROS SUPLEMENTOS UN RIESGO POTENCIAL PARA LA SALUD DE LA POBLACIÓN DEPORTIVO INFANTIL Y JUVENIL?

*M Mariscal Arcas<sup>1</sup>, A Olivares Ortega<sup>1</sup>, C Carvajal Rodríguez<sup>1</sup>, M Martín Matilla<sup>1</sup>, A Rivas Velasco<sup>1</sup>, F Olea Serrano<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. [folea@ugr.es](mailto:folea@ugr.es)

P18

RESIDUO DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN TEJIDO PLACENTARIO DE HOSPITALES DE GRANADA Y ALMERÍA

*B Olmos<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, F. Cañabate<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Poniente. Almería. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P19

EXPOSICIÓN HUMANA A ENDOSULFÁN Y SUS METABOLITOS EN EL SURESTE PENINSULAR

*A Rivas<sup>1</sup>, I Cerrillo<sup>1</sup>, M Fernández<sup>1</sup>, MI González<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup> Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P20

EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS EN TEJIDO ADIPOSO Y SUERO, ASI COMO CARGA ESTROGÉNICA EN PACIENTES AFECTAS DE CÁNCER DE MAMA.

*P Araque<sup>1</sup>, JM Molina<sup>1</sup>, I Cerrillo<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, J Carreño<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>, V Pedraza<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup> Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P21

PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN PLACENTAS DE GRANADA Y ALMERÍA

*B Olmos<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P22

PRESENCIA DE SUSTANCIAS CON EFECTO ESTROGÉNICO EN PLACENTAS DANESAS

*J Carreño<sup>1</sup>, JM Molina<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, MI Gonzalez<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

P23

DESARROLLO DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE POLIFENOLAS DISRUPTORES ENDOCRINOS Y FITOESTRÓGENOS EN MUESTRAS BIOLÓGICA HUMANAS

*MI González<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, J Carreño<sup>1</sup>, M Jiménez<sup>1</sup>, M Mariscal<sup>2</sup>, N Olea<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup> Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

**RESÚMENES**

**Y**

**OTRAS INFORMACIONES**

**Sesión 1. Bases científicas. Mecanismos moleculares y celulares de xenoestrógenos.**

**EFFECTOS DE LOS DISRUPTORES ENDOCRINOS SOBRE TEJIDOS MODULADOS (NO REGULADOS) POR HORMONAS: IMPLICACIONES TOXICOLÓGICAS Y EFECTOS SOBRE LA SALUD. EL PARADIGMA HEPÁTICO**

*Luis D. Boada y Manuel Zumbado*

Unidad de Toxicología. Dpto. de Ciencias Clínicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Los efectos ejercidos por aquellas sustancias químicas capaces de afectar el delicado equilibrio hormonal de los animales superiores han sido y son extensamente estudiadas, habiéndose encontrado múltiples evidencias de su más que probable vinculación con diferentes entidades nosológicas que afectan, fundamentalmente, a tejidos hormonodependientes (sistema reproductor). Así por ejemplo se han vinculado la exposición a disruptores endocrinos (DE) con patologías tales como cáncer de mama, de próstata, endometriosis, criptorquidia, epi e hipospadias, etc.

Aunque el término Disruptor Endocrino hace referencia a compuestos que inducen efectos adversos en el sistema hormonal, es obvio que las hormonas controlan de forma directa o indirecta la práctica totalidad del fisiologismo de los mamíferos., de tal forma que un grupo de expertos del NTP americano (National Toxicology Program) consideró recientemente que las consecuencias para la salud a largo plazo ejercidas por una función endocrina alterada durante el desarrollo no han sido completamente caracterizadas. Ello se debe a que existen otros muchos órganos o tejidos que, en condiciones fisiológicas normales, son funcionalmente modulados por el sistema hormonal. Entre ellos es de destacar el hígado.

El hígado es el principal órgano metabolizador de los animales superiores, tanto a nivel de procesos relacionados con el metabolismo energético como con procesos relacionados con la detoxificación. Además es en este órgano donde se lleva a cabo el metabolismo de las hormonas sexuales, siendo, por tanto, fundamental para mantener el equilibrio hormonal. El hepatocito presenta una gran carga enzimática en su retículo endoplásmico y en su aparato de Golgi. Entre los sistemas enzimáticos presentes en esta célula destacan por su importancia el Citocromo P450, uno de cuyos isoenzimas es el encargado de metabolizar las hormonas sexuales femeninas (estrógenos) hacia andrógenos. Además es en estas células donde se lleva a cabo la síntesis de las proteínas transportadoras de hormonas sexuales.

Es bien conocido el hecho de que cualquier sustancia que afecte el fisiologismo hepático va a afectar indirectamente el normal fisiologismo del animal implicado. Este concepto puede aplicarse también a los DE.

Las acciones inducidas por los estrógenos sobre el hígado son conocidas desde hace años. Se sabe que el hepatocito posee receptores citosólicos específicos para estrógenos (ER), andrógenos (AR) y otras hormonas esteroideas (glucocorticoides, GR). Los estrógenos son capaces de inducir proliferación hepatocitaria induciendo procesos mitóticos, razón por la cual los estrógenos y otras hormonas esteroideas sexuales, ya sean naturales o de síntesis, se consideran como promotores hepatocarcinogénicos por la IARC (son numerosos los trabajos que asocian la exposición a estrógenos, píldoras anticonceptivas, y andrógenos, anabolizantes androgénicos, con la aparición de

adenomas y carcinomas hepáticos), asimismo los estrógenos son capaces de inducir al citocromo P450 y, lo que es más importante, cuando el animal expuesto a estrógenos aún no ha completado su dotación enzimática (animal inmaduro o prepúber) puede haber una incapacidad manifiesta para metabolizar estas hormonas y se producirá una afectación importante en el equilibrio hormonal. Por otro lado, una alteración en la carga o en la actividad enzimática desembocaría en una afectación, por inhibición o estimulación, de la capacidad hepática para metabolizar otras sustancias, ya sean endógenas (urea o hemoglobina por ejemplo) o exógenas (tóxicos o fármacos).

Los DE son sustancias químicas presentes en el medio ambiente a baja concentración que entran en contacto con el animal a través de aire, agua o alimentos, desarrollándose esta exposición de forma crónica y, generalmente, durante toda la vida del mismo. Por este motivo aunque sus efectos reproductivos pueden ser importantes, no lo serán menos la modulación que están induciendo sobre la función hepática. Y es ésta la que de manera insidiosa pueda desembocar en efectos indeseables para la salud.

Por todas estas razones decidimos explorar la capacidad hepatotóxica de un grupo de DE con una clara capacidad estrogénica: los alquilfenoles (AF). La hipótesis en que nos basamos fue la siguiente. Si los AF mimifican la acción de los estrógenos en células y tejidos de aparatos reproductores, *in vivo* e *in vitro*, también serían capaces de ejercer en el hígado efectos similares.

El primer estudio planteado fue, obviamente, el estudio del efecto agudo inducido en hígado por dosis masivas de AFs. Aunque tal efecto no se corresponde con la exposición real a estas sustancias, la aparición o no de efectos es importante a la hora de desarrollar un estudio de toxicidad crónica que remede las condiciones de exposición ambiental.

Para el desarrollo de este trabajo seleccionamos animales macho (ratas Sprague-Dawley) inmaduros (20 días de edad), a las cuales administramos 60 mg/kg de octilfenol (OF), nonilfenol (NF) y etinilestradiol (como control de hormona estrogénica) durante 1, 5 o 10 días. La dosis elegida fue aquella en la que se observaba claramente un efecto estrogénico en los animales tratados (atrofia testicular o criptorquidia).

De este trabajo son de destacar las siguientes conclusiones:

- Los alquilfenoles, al igual que los estrógenos de síntesis o naturales no son citotóxicos para el hepatocito.
- Los alquilfenoles ejercen sobre el tejido hepático un efecto similar al que ejercen los estrógenos: inducen proliferación celular y dan lugar a aberraciones en el proceso de división celular.
- Sin embargo, existen efectos en este tejido no compartidos por estrógenos y alquilfenoles y, que por lo tanto no deben ser considerados como mediados por la activación del ER como es la modulación de las proteínas membranales capaces de fijar esteroides (inhibidas por los alquilfenoles y estimuladas por los estrógenos).

Aunque éste es sólo un trabajo preliminar y de acercamiento a los efectos adversos sistémicos que pueden ejercer estas sustancias, la existencia de receptores para los diferentes tipos de hormonas en muchos tejidos no reproductivos y los resultados previamente expuestos, deben llamar la atención hacia el estudio de los efectos perjudiciales para la salud, distintos de los puramente reproductivos, a que puede dar lugar la exposición a Disruptores Endocrinos.

## **EL EJE HIPOTALÁMICO-HIPOFISARIO-GONADAL, BLANCO DE MUCHOS PERTURBADORES NEUROENDOCRINOS. EL EJEMPLO DEL CADMIO.**

*M<sup>a</sup> Anunciación Lafuente Giménez y Aníbal González-Carracedo*

Laboratorio de Toxicología, Facultad de Ciencias, Campus de Orense, Universidad de Vigo, Las Lagunas, s/n, 32004-Orense.

Actualmente, se conocen los efectos que conlleva la exposición a diversos perturbadores endocrinos. No obstante, según la bibliografía consultada, hay pocos trabajos acerca de los efectos tóxicos directos en la glándula hipofisaria. Probablemente esto sea debido a que a diferencia del hígado y del riñón, la hipófisis no parece acumular los xenobióticos en sus células, a excepción de algunos metales como el cadmio. Generalmente, en la mayoría de los trabajos que aparecen en la bibliografía sobre la toxicidad endocrina inducida por la exposición al cadmio no se tiene en cuenta la unidad del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal, sino que estudian los efectos neurotóxicos que ejerce este metal pesado a nivel cerebral, evalúan su toxicidad a nivel de la glándula hipofisaria, ó bien valoran su toxicidad a nivel gonadal. Sin embargo, el estudio de este eje endocrinológico como una unidad, aporta datos muchos más interesantes sobre la actividad de diversos perturbadores endocrinos. En este sentido, pensamos que sería más conveniente hablar de *perturbadores neuroendocrinos* y no sólo *endocrinos*, ya que muchos xenobióticos alteran la actividad secretora de la glándula hipofisaria, a través de modificaciones sobre los neuromoduladores hipotalámicos que regulan la actividad de dicha glándula. Como es lógico, para realizar estos estudios se precisa hacer experimentación *in vivo* con el fin de no perder las interconexiones entre los distintos niveles de este eje fisiológico.

Por otro lado, cabe destacar que las hormonas hipofisarias son secretadas según patrones ultradianos y circadianos característicos, que conviene tener en cuenta para conseguir una mejor aproximación a la realidad a la hora de estudiar la actividad de los distintos perturbadores neuroendocrinos.

Ya que el cadmio se acumula en el sistema nervioso central (SNC), dicho metal puede inducir diversas alteraciones sobre las aminas biógenas a este nivel. En este sentido, diversos estudios han evidenciado en animales de experimentación expuestos al cadmio, las alteraciones que induce este metal sobre el contenido y/o el metabolismo de las aminas biógenas (dopamina, noradrenalina y serotonina) en distintas regiones cerebrales, entre las que cabe destacar las regiones hipofisotropas hipotalámicas. Además, el cadmio parece alterar el contenido de otros neurotransmisores centrales, como son los aminoácidos siguientes: glutamato, aspartato, taurina y GABA en diversas regiones cerebrales involucradas en la regulación de la secreción hipofisaria, independientemente de la vía de administración del metal. Globalmente y según apuntan los estudios de muy diversos grupos de investigación, todos estos datos reflejan efectos diferenciales del cadmio en distintas regiones del sistema nervioso. Además, los resultados a nivel hipotalámico podrían indicar alteraciones en los mecanismos reguladores hipotalámicos sobre la secreción hormonal hipofisaria. Por otro lado, las diferencias observadas por lo distintos autores reflejan la variedad tan amplia de las regiones cerebrales estudiadas. Podemos concluir, por tanto, que son necesarios trabajos posteriores para clarificar los efectos del cadmio sobre el SNC.

Entre los efectos citotóxicos del cadmio, se han estudiado recientemente las alteraciones que induce este tóxico sobre la secreción de las hormonas hipofisarias. A pesar de ello, actualmente hay todavía muy pocos datos sobre este aspecto. Así, este metal parece

alterar la secreción basal de prolactina *in vitro*. Además, según estudios *in vivo*, la administración aguda o subcrónica de cadmio conlleva un descenso en los niveles plasmáticos de la prolactina.

Según estudios *in vitro* e *in vivo*, el cadmio modifica la síntesis y/o secreción de prolactina, hormona adrenocorticotropa (ACTH), hormona del crecimiento (GH), hormona estimulante del tiroides (TSH) y gonadotropinas (LH y FSH). Estas alteraciones pueden conllevar, a su vez, distintas patologías en glándulas periféricas. Al mismo tiempo, la exposición al cadmio puede modificar la actividad secretora de estas dichas glándulas, y consecuentemente, alterar la actividad hipofisaria, mediante mecanismos de retroalimentación.

**Los resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación sugieren que el cadmio podría alterar el patrón ultradiano de la secreción de distintas hormonas hipofisarias como prolactina, hormona luteinizante (LH) y ACTH. Además, la exposición a este metal conlleva modificaciones en los ritmos circadianos de estas mismas hormonas y de las aminos biógenas implicadas en la regulación de estas hormonas.**

Asimismo, a nivel testicular, el cadmio afecta a las células de Sertoli y a las células de Leydig. Estos efectos son acompañados por un descenso en los niveles plasmáticos de testosterona, independientemente de la duración de la exposición al metal en rata macho adulta. Esta disminución ha sido confirmada en estudios realizados en nuestro laboratorio. Por otro lado, el descenso observado en los niveles de testosterona no puede ser explicado mediante los cambios que acontecen en la concentración de las gonadotropinas en plasma.

A la vista de los trabajos que aparecen en la bibliografía consultada y de los resultados obtenidos en nuestro laboratorio, el cadmio parece inducir una disrupción entre los distintos niveles del eje hipotalámico-hipofisario-testicular, ya que los cambios que se observan en un nivel no se corresponden con los que se visualizan en los niveles restantes.

**Sesión 3. Efectos ambientales****EFFECTOS AMBIENTALES SOBRE ECOSISTEMAS ACUÁTICOS****Eduardo de la Peña de Torres<sup>1</sup> y Pilar Gascó Alberich<sup>2</sup>**

Sección de Toxicología Ambiental. Asociación Española de Toxicología.

*Gran número de sustancias químicas, sintetizadas por el hombre y liberadas al medio ambiente, así como algunas naturales, tienen efecto sobre el sistema endocrino del hombre y de los animales. Se trata de compuestos persistentes, organohalogenados y bioacumulables que incluyen algunos plaguicidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas), si atendemos a lo indicado en la Conferencia de Wingspread, Wisconsin USA, por Colborn & Clement (1)*

Los términos disruptores endocrinos (*endocrine disrupting chemical* /EDCs) define a un grupo de sustancias químicas de muy diferente origen, estructura y uso. Exógenas al organismo, naturales o sintéticas, que interfieren en la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión, acción biológica o eliminación de las hormonas responsables del mantenimiento de la homeostasis y regulación del desarrollo, Olea et al. (2 y 3).

En general los ensayos toxicológicos estandarizados no son capaces de detectar la citada interferencia de carácter adverso. La disrupción endocrina que es una acción toxicológica especial escapa del proceso de evaluación del riesgo y ello ha dado lugar a muy diversas interpretaciones del problema de la disrupción; y es considerada como un descriptor de un cambio fisiológico que puede conducir a un efecto adverso para la salud

Se reseña que en la estrategia europea (4 - 6) del medio ambiente y salud denominada SCALE (S - science = ciencia, C - children = niño, A - anwerenese = concienciación, L - legal y E - evaluation = evaluación) donde se toman como elementos esenciales la interacción del medio ambiente y la salud, prestando atención preferente a la interacción de sustancias dada la exposición prolongada durante décadas la población ha estado expuesta a una mezcla de sustancias contaminantes (Tablas 1- 4).

La política de los productos químicos y medio ambiente, este basada en la adopción de normas de seguridad y un sistema de seguimiento y control (7-10), y en la lista de agentes peligrosos para la salud están las sustancias químicas incluidas las dioxinas, PCBs, disruptores endocrinos, contaminantes atmosféricos, protección y gestión de las aguas, residuos y los accidentes industriales (Tablas 5-11 y Figura 1).

En esta misma línea, no queremos dejar de resaltar la referencia en la legislación española a estas sustancias. En el Real Decreto 606/2003, de 23 de mayo (11), por el que se modifica el Reglamento del Dominio Público Hidráulico, que desarrolla varios Títulos de la Ley 29/1985, de 2 de agosto, de aguas, se especifica dentro de las Sustancias Contaminantes (Anexo II), en el punto 4 "sustancias y preparados o productos derivados de ellos, para los que se ha demostrado que poseen propiedades cancerígenas, mutagénicas o propiedades que puedan afectar a la función esteroideogénica, al tiroides, a la reproducción o a otras funciones endocrinas, en el medio acuático o a través del medio acuático".

<sup>1</sup> Presidente de la AETOX. CSIC. Centro de Ciencias Medioambientales ([epena@ccma.csic.es](mailto:epena@ccma.csic.es))

<sup>2</sup> Secretaria de la Sección de Toxicología Ambiental - AETOX. Instituto Nacional de Toxicología ([p.gasco@mju.es](mailto:p.gasco@mju.es))

La presencia de compuestos químicos en el medio que inducen disrupción endocrina es el objetivo de los ejemplos que van a ser tratados durante esta sesión, sobre efectos ambientales sobre el ecosistema acuático, la disrupción endocrina que afecta a los mamíferos marinos, que tiene el título “*Valoración de la disrupción endocrina en tres cetáceos residentes en el archipiélago canario*” que es la ponencia de la Dra. Matilde Carballo, del INIA; y por otro lado la ponencia titulada “*Imposex Biomarcador de Contaminación del TBT*” que es la ponencia del Dr. Rodolfo Barreiro, de la Universidad de La Coruña.

Queremos felicitar al Prof. Eugenio Vilanova, de la Universidad Miguel Hernández, por la organización de la presente 12 Jornada Técnica SESA-AETOX sobre Disruptores Endocrinos, y seguir la estela que desde la primera reunión en Granada 1996, se ha materializado con el apoyo del Ministerio de Sanidad y Consumo, Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral (11), con la colaboración de diferentes Asociaciones y Sociedades (Sociedad Española de Sanidad Ambiental SESA, Asociación Española de Toxicología, AETOX; Sociedad Española de Epidemiología, SEE; y Red Española para el Desarrollo de Métodos Alternativos, REMA); y deseamos dejar patente nuestra consideración al excelente catalizador para que se haya realizado la presente reunión: VI Conferencia Nacional sobre Disrupción Endocrina, ConDE-2003-Elche, y además haber contado con dos miembros de la Sección de Toxicología Ambiental de la AETOX\*.

#### Referencias:

1. Colborn T. & Clement C. (1992) *Chemical-induced alterations in sexual and functional development: The Wildlife/Human Connection*. Princeton (NY) Princeton Scientific Publishing.
2. Olea N, Fernández M.F, Martín P. (2001) Disruptores Endocrinos. El caso Particular de los Xenobióticos Estrogénicos. I. Estrógenos Naturales. *Rev. Salud Ambient.*, 1 (1) 6-11.
3. Castillo M, López, M, Olmos, J, Olea, N. (2002) Los PCBs salen de Paseo. *Rev. Salud Ambient.*, 2 (2): 74-79.
4. Comisión de las Comunidades Europeas (2003) Estrategia europea de medio ambiente y salud. Bruselas, 11.6.2003. COM (2003) 338 final.
5. Comisión de las Comunidades Europeas (2001) Libro Blanco. Estrategia para la futura política en materia de sustancias y preparados químicos. Bruselas, 27. 2. 2001. COM (2001) 88 final.
6. Comisión de las Comunidades Europeas (2003) *Consultation Document concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH)* Vol. I-VI.
7. Sección de Toxicología Ambiental (2002) Exposición a Sustancias Químicas y Salud Humana: Avances en la Política de Control de Riesgo Químico. *Rev. Salud Ambient.*, 2 (2): 80-83.
8. REMA (2002) *Los Métodos Alternativos y la Estrategia Europea de Evaluación de Sustancias Químicas*. Red Española de Métodos Alternativos REMA, Ministerio de Sanidad y Consumo. CSIC Madrid 28-28 octubre 2002. 46 pp.
9. Carballo, M, Aguayo, S, Roset, J, de la Peña, E, de la Torre, A, Muñoz, M.J. (2002) Valoración de las Aguas Residuales Mediante Procedimientos Analíticos y Biológicos. *Rev. Salud Ambient.*, 2 (1): 32-38.
10. Repetto G. (2002) La Nueva Estrategia Europea sobre Sustancias Químicas: El impacto sobre los Métodos Alternativos. *Rev. Toxicol.*, 20: 82-83.
11. Real Decreto 606/2003 de 23 de mayo, por el que se modifica el Real Decreto 849/1986, de 11 de abril, por el que se aprueba el Reglamento del Dominio Público Hidráulico que desarrolla los Títulos preliminar, I, IV, V, VI y VIII de la Ley 29/1985 de 2 de agosto, de Aguas (BOE 06.06.03).
12. Ministerio de Sanidad y Consumo (2001) *V Conferencia Nacional sobre Disruptores Endocrinos*. 9ª Jornada Técnica SESA. Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. Madrid, 3 de abril de 2001. 60 pp.

## VALORACIÓN DE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN 3 ESPECIES DE CETÁCEOS RESIDENTES EN EL ARCHIPIELAGO CANARIO.

*Carballo M, Aguayo S, Esperón F, de la Torre A, Fernandez A\*, de la Peña E \*\* y Muñoz MJ.*

CISA-INIA. Valdeomos. Madrid. (\*) Dto. de Patología. Facultad de Veterinaria. ULPGC. Las Palmas de Gran Canaria. (\*\*) Centro de Ciencias Medio Ambientales. CSIC. Madrid.

Las islas Canarias es un área de gran abundancia y diversidad de cetáceos. Sus características oceanográficas permite que se establezcan poblaciones residentes, así sus aguas están habitadas por cachalote (*Physeter macrocephalus*), calderón (*Globicephala macrorhynchus*) y delfín mular (*Tursiops truncatus*). Estas tres especies de cetáceos son Odontocetos, es decir predadores que ocupan un lugar elevado en la cadena trófica marina. Esto, junto a determinadas características de los mamíferos marinos, les hace muy sensibles a acumular altos niveles de contaminantes persistentes, lipofílicos y bioacumulables en sus tejidos grasos.

El estudio que aquí se presenta se ha centrado en la detección de contaminantes considerados como disruptores endocrinos, termino que agrupa a gran cantidad de sustancias que presentan la capacidad de mimetizar la actividad de las hormonas y alterar el funcionamiento sistema endocrino, en muestras procedentes del banco de tejidos que dispone el Dpto. de Patología Animal, de la Facultad de Veterinaria de la ULPGC. Estas han sido recogidas durante los años 1993-2000 de animales varados en las costas del archipiélago canario.

Las muestras correspondían a 7 cachalotes, 6 calderones y 11 delfines mulares. Se analizó en grasa subcutánea de cetáceos (*blubber*) compuestos clorados: pesticidas clorados (aldrín, clordano, dieldrín, endosulfan, endrin, hexaclorohexano, hexaclorobenzeno, lindano, trifuralin y DDTs) y policlorados bifenilos (11 congéneres de PCBs) y en hígado: hidrocarburos aromáticos policíclico (HAPs), compuestos organoestánicos (tri-, di- y mono-butyl-estaño) y metales pesados (As, Cd, Pb, Hg).

Los resultados obtenidos indicaban que, en el *blubber*, los compuestos organoclorados DDTs y PCBs eran los detectados en mayor concentración en todos los individuos. Existían algunos pesticidas, como clordano, aldrin y hexaclorobenzeno, que también eran comunes a todos los animales, si bien a pequeñas concentraciones. Los DDTs eran mayoritarios en el *blubber* de los cachalotes, mientras que los PCBs lo eran en el *blubber* de los delfines y de los calderones. Los machos adultos mostraban las concentraciones mas elevadas de DDTs y PCBs, 21050 ng/g pf y 25390 ng/g pf respectivamente. Dentro del grupo de DDTs, el p,p'-DDE era el mayoritario y representaba un alto porcentaje (mas del 60%) del total de DDTs. Respecto a los congéneres de PCBs, fue el PCB 153 el mas abundante (casi un tercio del total de PCBs), seguidos de PCB180, PCB 138 y PCB 187. Estos congéneres han sido descritos como mayoritarios en diferentes especies de cetáceos.

Los delfines presentaban las concentraciones mas elevadas para estos compuestos, superando en un orden de magnitud a las detectadas en las otras dos especies. Sus hábitos alimenticios, sus costumbres costeras y la mayor proximidad a las fuentes antropogénicas de contaminación podrían explicar estos resultados.

Respecto a los compuestos no-clorados analizados en hígado, es de señalar que:

Los HAPs que se detectaron fueron naftaleno y fluoranteno , a concentraciones muy bajas y solo en pocos calderones y cachalotes.

El metabolito mas abundante de los compuestos organoestánicos fue el di-butil-estaño (DBT), aunque estaba presente en un porcentaje bajo de individuos, principalmente en los delfines y a unas concentraciones bajas (30-150 ng/g pf).

Los niveles detectados de As, Cd y Pb eran bajos ó representaban niveles medios respecto a los descritos en otras áreas geográficas, sin embargo destacaban las concentraciones altas de Hg.

Podemos indicar de forma general que los valores medios de los diferentes contaminantes que fueron detectados en el *blubber* e hígado de los cetáceos varados en las islas del Archipiélago Canario, se pueden considerar bajos ó medios respecto a los obtenidos para estas especies en otras áreas geográficas, a excepción del Hg. Estos valores se encuentran alejados de las concentraciones que se han relacionado con determinados efectos tóxicos asociados a este tipo de compuestos, sin embargo la presencia de determinadas patologías en animales que presentaban los niveles mas elevados de compuestos hace necesario realizar un estudio detallado de cada caso.

Proyecto REN2002-04162-C02-02

## IMPOSEX COMO BIOMARCADOR DE TBT

Rodolfo Barreiro Lozano, José Miguel Ruiz de la Rosa y María Quintela Sánchez<sup>3</sup>

Área de Ecología; Facultad de Ciencias; Universidad de La Coruña; Campus A Zapateira s/n; 15071 – A Coruña

### Antecedentes

El tributilo de estaño o TBT (del inglés *TriButylTin*) se viene utilizado con diversos fines desde que se conocen sus propiedades biocidas (principios 1950s), destacando su empleo como principio activo en las pinturas anti-íncrustantes aplicadas a los barcos para retrasar el desarrollo de organismos adheridos a su superficie. Pinturas que prolongan la conservación y facilitan el movimiento de las embarcaciones. Estas pinturas consumen un 70% de la producción mundial de TBT y son la principal vía de entrada de este compuesto al medio acuático desde mediados de los 1960s. Las utilizan un 70-80% de la flota mercante mundial, siendo las preferidas por su beneficios en ahorro de fuel, menor mantenimiento e intervalos entre operaciones de repintado más largos (de Mora, 1996).

Es un compuesto hidrofóbico con carga positiva que tiende a adsorberse al material particulado siendo retirado de la columna de agua para acumularse en los sedimentos donde puede persistir años o incluso décadas (Sarradin *et al.*, 1991). Depósito a largo plazo que puede plantear problemas (ej. dragados) al ser la adsorción relativamente débil y reversible (Maguire, 2000). También puede ser biodegradado por un amplio espectro de organismos en un proceso de debutilación secuencial dando en primer lugar dibutilo de estaño (DBT, el principal producto de degradación), luego monobutilo (MBT), y finalmente a Sn (IV) (Valkirs *et al.*, 1991). En consecuencia su vida media en agua va desde 1 semana hasta 2-4 meses en función de la temperatura y actividad biológica del medio (Seligman *et al.*, 1996). En medio marino, el TBT puede presentarse en niveles máximos de 50-200 ng/L (ppt) en zonas muy contaminadas (puertos, astilleros) (Waite *et al.*, 1996), con situaciones puntuales de hasta varios miles de ng/L en países sin control sobre su uso (Alzieu, 2000). Las zonas alejadas de fuentes de este contaminante no suelen superar los 10-20 ng/L, frecuentemente encontrándose en el entorno o por debajo de 1-2 ng/L (Michel & Averty, 1999).

Su moderada lipofilia facilita que se concentre en organismos acuáticos. Los moluscos son el grupo con mayores concentraciones corporales (hasta 5.000-10.000 ng/g PF, o más) posiblemente debido a la baja actividad de sus sistemas enzimáticos encargados de debutilar el TBT (Lee, 1991). Sin embargo, no hay evidencias de que pueda ser bioamplificado a lo largo de la cadena trófica (Alzieu, 2000). El TBT puede provocar daños mortales y subletales en grupos taxonómicos diversos y a distintos niveles de organización (desde alteraciones bioquímicas hasta extinciones a escala local, Fent, 1996), considerándose el organoestánnico más peligroso (Bennett, 1996). Puede provocar efectos dañinos a concentraciones extremadamente bajas fáciles de alcanzar en situaciones reales, con umbrales tóxicos por debajo de 1 ppt ( $10^{-12}$ ) en los grupos más sensibles (Alzieu, 2000).

Un efecto destacado es la masculinización de gasterópodos marinos hembra. Anomalía denominada imposex ("superposición de rasgos masculinos en las hembras", Smith, 1980) descubierta alrededor de 1970 en distintas zonas del mundo y capaz de impedir la reproducción en las hembras de algunas especies (ej. *Nucella lapillus*) llevando a su desaparición regional por falta de reclutamiento (Bryan *et al.*, 1986). La intensidad del imposex sigue un comportamiento dosis-respuesta proporcional a la contaminación por TBT, sirviendo de biomarcador cuantitativo de la exposición y efectos del TBT. Su intensidad típicamente se cuantifica con 2 índices (Gibbs *et al.*, 1987): el Índice del Tamaño Relativo del Pene (*Relative Penis Size Index*, RPSI) basado en el tamaño del pene de las hembras, y el Índice de la Secuencia del Vaso Deferente (*Vas Deferens Sequence Index*, VDSI) basado en el grado de desarrollo del conducto o vaso deferente masculino (VD) en las hembras. En la actualidad llama la atención su carácter casi universal, conociéndose en unas 150 especies de gasterópodos aunque no todas sufren el mismo grado de masculinización ni todas se ven esterilizadas (Gibbs *et al.*, 1997). Tampoco todas muestran igual sensibilidad, destacando especies particularmente sensibles donde el

imposex aparece a  $< 0.5$  ng/l (ej. *Nucella lapillus*) por lo que se considera la respuesta biológica más sensible a este contaminante (Gibbs & Bryan, 1996). Estas diferencias de sensibilidad hacen posible que diferentes especies sirvan de biomarcador a distintos niveles de contaminación.

A finales del 2001, la Organización Marítima Internacional aprobó un Convenio Internacional que fijaba el 1 de enero de 2003 como fecha tope para seguir aplicando pinturas con TBT a barcos de manera que para el 1 de enero de 2008 no quede ningún barco pintado con TBT (International Maritime Organization, 2001). Por tanto, es de esperar que la contaminación por TBT tenderá a disminuir en años venideros.

### **El caso de Galicia: extensión e incidencia del imposex como biomarcador de TBT**

Dada la gran falta de información sobre la incidencia del imposex y la contaminación por TBT en el litoral español, en 1996 nuestro grupo de trabajo realizó un amplio sondeo del litoral gallego para conocer el “estado de la cuestión” en nuestras aguas (Ruiz *et al.*, 1998). Elegimos *Nucella lapillus* como especie indicadora, un gasterópodo común en nuestro litoral, cuyo imposex es uno de los biomarcadores más sensibles de TBT, y cuya capacidad para bioacumular TBT permite usar sus contenidos corporales como apoyo para interpretar los datos de imposex. Los resultados mostraron la amplísima incidencia del imposex en Galicia, apareciendo en todos los lugares muestreados y afectando al 100% de las hembras en un 75% de éstos ( $> 80\%$  hembras afectadas en el 25% restante). Se trataba de un imposex muy desarrollado, con un 80% de hembras con un pene y un VD completamente desarrollado. Aunque la severidad del imposex variaba entre poblaciones ocurriendo los valores más bajos en localidades de costa abierta y los más altos en las del interior de rías. Resultados que demostraban que las medidas legislativas de principios de los 1990s no habían evitado la presencia de TBT en nuestras costas en cualquier punto del litoral y reforzaban la visión del TBT como un contaminante presente a escala global.

A iguales niveles de bioacumulación el desarrollo del imposex era menor en nuestro caso que en latitudes más septentrionales sugiriendo que la sensibilidad de la especie al contaminante no era idéntica a lo largo de su rango de distribución, en contradicción con la creencia general previa. Planteando la hipótesis de que la diferente sensibilidad podía guardar relación con el hallazgo de cierta variabilidad en la expresión del imposex. Variabilidad cuyas implicaciones analizamos posteriormente.

### **Versatilidad del imposex como biomarcador: trasplantes**

*Nucella lapillus*, por su ausencia, no podía usarse en todo el litoral. Ausencia que podía sospecharse debida a la propia contaminación en casos como las inmediaciones del puerto de La Coruña o la ría de Ferrol donde *Nucella lapillus* había sido habitante común del litoral en el pasado. Ello distorsionaba la evaluación del grado de contaminación del litoral al carecer de datos para lugares donde potencialmente la contaminación podía ser más elevada. Ante esta situación realizamos dos experiencias ensayando una modalidad diferente de trasplante en cada una (Barreiro *et al.*, 1998; Quintela *et al.*, 2000). En la primera trasplantando individuos en jaulas permanentemente sumergidas, como trasplante que permite trabajar incluso en sitios donde no hay un hábitat adecuado para *Nucella*. Y una segunda, con trasplantes directamente sobre roca para una exposición a la contaminación más fiel a la natural.

Los resultados mostraron claramente la importancia de la contaminación por TBT en las dos áreas estudiadas apoyando la hipótesis de que el TBT podría ser uno de los responsables de la ausencia de esta especie en esos lugares. Ambos tipos de trasplante fueron útiles detectando y cuantificando la contaminación por TBT. Encontrando un paralelismo razonable en bioacumulación de TBT e inducción de imposex en las hembras en los dos casos. Los cambios más marcados de intensidad de imposex ocurrieron al principio del periodo de exposición, siendo más rápida la respuesta en jaulas (1 mes) que en roca (3 meses), lo que indicaba que este tipo de experiencias no necesitan prolongarse más de 2-3 meses para detectar la contaminación por TBT. Fueron necesarias exposiciones más largas para obtener un desarrollo del imposex comparable al de poblaciones naturales. De hecho, la semejanza de la relación intensidad de imposex-bioacumulación de TBT en los trasplantes de roca respecto a la vista en poblaciones naturales sugería que los trasplantes son una alternativa adecuada para detectar la contaminación por TBT, lográndose respuestas que reproducen razonablemente las vistas en poblaciones naturales con exposiciones de unos 5-6 meses.

## Un problema en Galicia: el Síndrome de Dumpton (SD), sus consecuencias para la conservación de la especie y su uso como biomarcador de TBT

Nuestro sondeo del litoral gallego mostraba que la expresión del imposex en *Nucella lapillus* en Galicia presentaba cierta variabilidad, destacando la existencia de hembras con imposex pero sin pene. Variabilidad que recordaba la vista en una pequeña población superviviente hallada en una zona del SE de Inglaterra donde la contaminación por TBT había hecho desaparecer a esta especie (Gibbs, 1993). Población que incluía un porcentaje de individuos con un defecto genético (Síndrome de Dumpton) que reducía la masculinización de las hembras dificultando que las esterilizase el imposex y favoreciendo así la supervivencia de la especie. Síndrome cuya relevancia pasó desapercibida al parecer un fenómeno geográficamente restringido dentro del amplio rango de distribución de la especie. Nuestro hallazgo de hembras con imposex pero sin pene en Galicia indicaba que la incidencia del SD en el litoral atlántico europeo era mayor de lo que se pensaba. Es más, las poblaciones con SD eran más frecuentes en Galicia que en las otras zonas donde se conocía, aprovechando esta oportunidad para estudiar más detalladamente su presencia y distribución geográfica en Galicia e indagar sus consecuencias para el uso del imposex como biomarcador de TBT (Barreiro *et al.*, 1999; Quintela *et al.*, 2002). Como los esquemas convencionales de desarrollo del VD no se ajustaban bien a lo que encontrábamos en Galicia y no siempre cuantificaban adecuadamente la intensidad del imposex propusimos una nueva versión modificada del sistema original que se ajusta mejor a los casos que nosotros habíamos encontrado, mantiene un sentido biológico (al basarse sólo en el VD, el rasgo del imposex acaba provocando esterilidad), y es más sencillo que versiones anteriores.

La presencia de SD en Galicia estaba muy extendida por todo el litoral, encontrándose machos y hembras afálicas sin patrón geográfico claro. La afalia femenina se encontraba en más sitios que la masculina; siendo además más frecuentes, por población, las hembras que los machos con SD. Aunque para ambos sexos el SD era un fenómeno de baja frecuencia (50% de poblaciones con < 10% de individuos afectados). A pesar de que el imposex era la norma en la especie, en muchas localidades coexistían hembras sin imposex o con sólo imposex inicial con otras que sufrían ese imposex muy intenso, observación inusual en esta especie. Demostrando nuestros resultados que la presencia de hembras sin nada o con poco imposex estaba significativamente ligada a la presencia de SD en la población. Demostración que reforzaba la visión del SD como protector de los efectos del TBT.

Nuestros resultados también demostraban que el SD altera la relación entre intensidad de imposex e intensidad de la contaminación, en contradicción con la creencia generalizada de que dicha relación es muy homogénea. Sirviendo así de llamada a atención a la recomendación de la Comisión OSPAR de utilizar el imposex en *Nucella lapillus* como herramienta para monitorizar la contaminación por TBT en el Atlántico Noroccidental.

### Imposex en otras especies: *Nassarius reticulatus*

Aunque *Nucella lapillus* es un excelente indicador de TBT, no permite cubrir todo el litoral pues no habita costas sin sustrato rocoso intermareal, ni zonas de baja salinidad, ni con alta contaminación por TBT. En esos casos se puede usar especies alternativas como el *Nassarius reticulatus* que también desarrolla imposex y suele habitar esos lugares. Con la intención de tener más información sobre el nivel de contaminación en esas zonas, hicimos un sondeo del imposex y la bioacumulación en *Nassarius reticulatus* centrado principalmente en rías en las que habíamos detectado una presencia importante de TBT (Barreiro *et al.*, 2001). Durante este sondeo encontramos que en algunos sitios una parte apreciable de las hembras contenían masas de cápsulas de huevos abortadas que indicaban que eran estériles. Hallazgo inesperado que llevó a un análisis más detallado tratando de descubrir si el imposex podía tener alguna relación con la esterilidad.

Al igual que en *Nucella lapillus*, el imposex era la norma en todas las localidades (100% de hembras afectadas en la mayor parte de los sitios) aunque destacaban las 3 rías con grandes puertos comerciales (Ferrol, A Coruña y Vigo). Resultados que demostraban que el TBT estaba presente en niveles comparables a los de cualquier otra zona del litoral Europeo con fuentes de TBT como puertos. Aunque no se limitaba a las inmediaciones de grandes puertos como en ocasiones sugieren los datos obtenidos en otras zonas del mundo.

En este trabajo y tras examinar las primeras muestras, nos percatamos de que la masculinización en esta especie parecía afectar también a la sección más interna del gonoducto femenino ensayando, por tanto, una nueva estima del grado de masculinización basada en esa zona del gonoducto. La masculinización de la sección interna del gonoducto afectaba > 25% de las hembras, claramente asociado a la intensidad del imposex. Esta deformación tendía a aparecer sólo en hembras con un VD totalmente desarrollado, apoyando la idea de que las deformaciones del gonoducto interno se debían al TBT. Por otra parte, indicaba que se trataba de un síntoma “tardío” de masculinización que aparecía sólo tras exposición a una contaminación fuerte. Proponiendo el grado de masculinización de esa zona interna como un nuevo índice para discriminar entre sitios muy contaminados más útil que los índices convencionales de imposex. En contra de lo conocido en esta especie, encontramos hembras estériles (4-26%) en localidades de Ferrol y A Coruña, ambas rías con fuerte contaminación por TBT. Se trataba siempre de hembras con un grado máximo de imposex. Nuestros resultados mostraban que el porcentaje de esterilidad se relacionaba significativamente con la intensidad del imposex, lo que sugería que esa esterilidad podía estar de alguna manera relacionada bien con el imposex bien con los efectos del TBT.

## Referencias

- Alzieu C (2000) Impact of tributyltin on marine invertebrates. *Ecotoxicology* 9, 71-76.
- Barreiro R, González R, Quintela M, Ruiz JM (2001) Imposex, organotin bioaccumulation and sterile females in *Nassarius reticulatus* from polluted areas of NW Spain. *Marine Ecology Progress Series* 218, 203-212.
- Barreiro R, Quintela M, Ruiz JM (1999) Aphally and imposex in *Nucella lapillus* from Galicia (NW Spain): incidence, geographical distribution and consequences for the biomonitoring of TBT contamination. *Marine Ecology Progress Series* 185, 229-238.
- Barreiro R, Ruiz JM, Quintela M (1998) Respuesta a la contaminación por TBT en individuos trasplantados de *Nucella lapillus* (L.) desde zonas poco contaminadas a los puertos de Ferrol y A Coruña. *Cuadernos de Investigación Biológica (Bilbao)* 20, 279-282.
- Bennett RF (1996) Industrial manufacture and applications of tributyltin compounds. In: *Tributyltin: case study of an environmental contaminant* (ed. de Mora SJ), pp. 21-61. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bryan GW, Gibbs PE, Hummerstone LG, Burt GR (1986) The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around South-West England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 66, 611-640.
- de Mora SJ (1996) The tributyltin debate: ocean transportation versus seafood harvesting. In: *Tributyltin: case study of an environmental contaminant* (ed. de Mora SJ), pp. 1-20. Cambridge University Press, Cambridge.
- Fent K (1996) Ecotoxicology of organotin compounds. *Critical Reviews in Toxicology* 26, 1-117.
- Gibbs PE (1993) A male genital defect in the dog-whelk, *Nucella lapillus* (Neogastropoda), favouring survival in a TBT-polluted area. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 73, 667-678.
- Gibbs PE, Bebianno MJ, Coelho MR (1997) Evidence of the differential sensitivity of neogastropods to tributyltin (TBT) pollution, with notes on a species (*Columbella rustica*) lacking the imposex response. *Environmental Technology* 18, 1219-1224.
- Gibbs PE, Bryan GW (1996) TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction. In: *Tributyltin: case study of an environmental contaminant* (ed. de Mora SJ), pp. 212-236. Cambridge University Press, Cambridge.
- Gibbs PE, Bryan GW, Pascoe PL, Burt GR (1987) The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 67, 507-523.
- International Maritime Organization (2001) International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on Ships.
- Lee RF (1991) Metabolism of tributyltin by marine animals and possible linkages to effects. *Marine Environmental Research* 32, 29-35.
- Maguire RJ (2000) Review of the persistence, bioaccumulation and toxicity of tributyltin in aquatic environments in relation to Canada's toxic substances management policy. *Water Quality Research Journal of Canada* 35, 633-679.
- Michel P, Averty B (1999) Contamination of French Coastal Waters by Organotin Compounds - 1997 Update. *Marine Pollution Bulletin* 38, 268-275.
- Quintela M, Barreiro R, Ruiz JM (2000) The use of *Nucella lapillus* (L.) transplanted in cages to monitor tributyltin (TBT) pollution. *The Science of the Total Environment* 247, 227-237.
- Quintela M, Barreiro R, Ruiz JM (2002) Dumpton Syndrome reduces tributyltin (TBT) sterilising effect on *Nucella lapillus* (L.) by limiting the development of imposed vas deferens. *Marine Environmental Research* 54, 657-660.
- Ruiz JM, Quintela M, Barreiro R (1998) Ubiquitous imposex and organotin bioaccumulation in gastropods *Nucella lapillus* (L.) from Galicia (NW Spain): A possible effect of nearshore shipping. *Marine Ecology Progress Series* 164, 237-244.
- Sarradin PM, Astruc A, Desauziers V, Pinel R, Astruc M (1991) Butyltin pollution in surface sediments of Arcachon Bay after ten years of restricted use of TBT-based paints. *Environmental Technology* 12, 537-543.
- Seligman PF, Maguire RJ, Lee RF, et al. (1996) Persistence and fate of tributyltin in aquatic ecosystems. In: *Organotin: Environmental Fate and Effects* (eds. Champ MA, Seligman PF), pp. 430-457. Chapman & Hall, London.
- Smith BS (1980) The estuarine mud snail, *Nassarius obsoletus*: abnormalities in the reproductive system. *Journal of Molluscan Studies* 46, 247-256.
- Valkirs AO, Davidson B, Kear LL, Fransham RL (1991) Long-term monitoring of tributyltin in San Diego Bay, California. *Marine Environmental Research* 32, 151-167.
- Waite ME, Thain JE, Waldock JM, et al. (1996) Changes in concentrations of organotins in water and sediment in England and Wales following legislation. In: *Organotin* (eds. Champ MA, Seligman PF), pp. 553-580. Chapman & Hall, London, UK.

## **EFFECTOS DE LOS XENOESTRÓGENOS EN ORGANISMOS MODELO: IMPORTANCIA DEL ESTADIO DE DESARROLLO Y DE LA VÍA DE EXPOSICIÓN**

**Maren Ortiz-Zarragoitia, Miren P. Cajaraville**

Biología Zelularra eta Histología Laborategia, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea/Universidad del País Vasco, 644 PK, E-48080 Bilbao. E-mail: [zopcabem@lg.ehu.es](mailto:zopcabem@lg.ehu.es)

Muchos compuestos químicos presentes en el medio acuático interfieren con el sistema endocrino causando efectos adversos sobre la reproducción, crecimiento, comportamiento y sistema inmune de los organismos acuáticos. Estos compuestos se denominan disruptores endocrinos. Los xenoestrógenos son disruptores endocrinos que actúan mimetizando a los estrógenos naturales e incluyen pesticidas, derivados de detergentes, antioxidantes, plastificantes, PCBs y muchos otros compuestos industriales. El objetivo de este trabajo es poner de manifiesto que el estadio de desarrollo en que ocurre la exposición y la vía de exposición al xenoestrógeno determinan los efectos finales detectados en los organismos. Para ello se han realizado estudios en dos organismos acuáticos modelo: el pez cebra y el mejillón. El pez cebra se utiliza frecuentemente en tests de toxicidad y es un organismo adecuado para estudios de laboratorio y estudios moleculares por su rapidez de reproducción y por estar su genoma completamente secuenciado. Es además una especie sensible a los estrógenos, ideal como modelo para la evaluación de efectos estrogénicos. Por otro lado, los mejillones se utilizan en todo el mundo como bioindicadores y centinelas de la contaminación en programas de evaluación de la contaminación marina. En peces cebra, los efectos estrogénicos se han evaluado en adultos de ambos sexos y en larvas mediante la cuantificación de los niveles de la proteína femenina vitelogenina (Vtg) con un sistema ELISA o mediante la cuantificación de la expresión génica de Vtg y de las aromatasas CYP19a y b utilizando RT-PCR. Debido a que en mejillón no se disponen de anticuerpos ni sondas específicas, se ha utilizado un método espectrofotométrico indirecto, basado en la medida de los grupos fosfato liberados en medio alcalino (alkali-labile phosphates, ALP) como medida indirecta de proteínas similares a Vtg. Los resultados obtenidos con la técnica ALP están correlacionados positivamente con los obtenidos por ELISA en pez cebra, aunque el sistema ELISA se demostró más sensible que la técnica ALP. En todos los casos también se ha analizado la histología de la gónada y el desarrollo gametogénico. Los resultados demuestran que los compuestos estrogénicos como el etinilestradiol provocan inducción de Vtg tanto en adultos como en larvas del pez cebra mientras que los efectos sobre el desarrollo gonadal dependen del género de los individuos y del estadio de desarrollo. Así mismo, en mejillones los efectos sobre ALP y alteraciones gonadales dependen del género.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (proyecto AMB99-0324), la Comisión Europea (proyecto BEEP, contrato no. EVK3-CT2000-00025) y la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea mediante una ayuda a Grupos Consolidados de Investigación.

**Sesión 4. Datos en humanos y estudios epidemiológicos****DISRUPCIÓN ENDOCRINA Y CÁNCER DE MAMA. ESTUDIO DE CASOS-CONTROLES EN MUJERES DE GRANADA Y ALMERÍA.**

*J Ibarluzea\**, *N Olea\*\**, *L Santa Marina\**, *JM Begiristain\**, *J Aurrekoetxea\**, *J Laguna*, *MF Olea\*\*\**, *MF Fernández\**, *V Pedraza\*\**.

Dirección de Salud Pública de Gipuzkoa\*; Laboratorio de Investigaciones Científicas-Hospital S. Cecilio. Universidad de Granada\*\*. Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada\*\*\*.

Subdirección de Salud Pública de Gipuzkoa. Avenida de Navarra 4. 20013 Donostia. Tel: 943022749. Correo electrónico: mambien3-san@ej-gv.es

**Antecedentes y objetivos:** La hipótesis de asociación entre la exposición a compuestos organoclorados (OC) con actividad estrogénica y el cáncer de mama ha generado un importante número de estudios que no muestran una evidencia clara. El objetivo de este estudio fue analizar la relación entre la concentración de determinados plaguicidas OC en tejido adiposo y su actividad estrogénica expresada en términos del ensayo E-screen y el cáncer de mama.

**Métodos:** En 1996 se inició un estudio de casos y controles hospitalario en Granada y Almería cuyo reclutamiento finalizó en 1998. Los casos eran mujeres de 35 a 70 años intervenidas quirúrgicamente de cáncer de mama. Los controles fueron apareadas por edad ( $\pm$  3 años) y hospital de intervención. Participaron 198 casos y 260 controles.

Entrevistadores entrenados recogieron, a través de un cuestionario estructurado, información referente a: características sociodemográficas, H<sup>a</sup> reproductiva, anticoncepción, terapia hormonal, dieta y consumo de tabaco y alcohol. Muestras de tejido adiposo obtenidas en la intervención quirúrgica fueron analizadas por técnicas cromatográficas. En el proceso separativo se obtuvieron dos fracciones:  $\alpha$  (xenoestrógenos como los plaguicidas OC) y  $\beta$  (endoestrógenos). En la fracción  $\alpha$  se determinó la concentración de quince OC plaguicidas, entre ellos: DDT y sus metabolitos (*p,p'*-DDE), endosulfan y sus metabolitos, aldrín y lindano.

Para medir la estrogenicidad del extracto de la fracción  $\alpha$  y  $\beta$  se utilizó el ensayo E-screen, que se fundamenta en la proliferación de células estrógeno-sensibles de cáncer de mama (MCF-7). Como parámetro representativo de dicha actividad se utilizó la potencia proliferativa relativa, la cual mide la capacidad de producir proliferación celular de una sustancia, mezcla o extracto en relación con la capacidad del estradiol.

El análisis de los datos se realizó por regresión logística no condicional. Solamente se valoró el riesgo de cuatro plaguicidas, DDE, aldrín, endosulfán-éter y lindano, ya que el resto de OC presentó un porcentaje de muestras positivas inferior al 30% y fueron excluidos del análisis epidemiológico. Se trabajó con terciles o cuartiles con el DDE y la carga estrogénica de la fracción xenobiótica. En este caso se comparó el riesgo de los cuartiles o terciles superiores con el del estrato de referencia. Para el aldrín, endosulfán-

éter y lindano se comparó el riesgo de las mujeres con niveles por encima del límite de determinación con las que tenían niveles inferiores al mismo.

**Resultados:** Después de ajustar por las variables de apareamiento y por las potenciales variables de confusión, las estimaciones del incremento del riesgo de cáncer de mama para el conjunto de las mujeres estudiadas fue significativo para el aldrín (OR: 1,73; IC95%: 1,09-2,73), aunque se encontraron riesgos superiores a 1, muy próximos al nivel de significación, para el lindano y en endosulfan-éter. Cuando se estudiaron solamente las mujeres menopáusicas se observaron aumentos significativos del riesgo para el aldrín (OR: 1,97; IC 95%: 1,09-3,53) y el lindano (OR: 1,80 IC95%: 1,04-3,14). La actividad estrogénica de la fracción xenobiotica, expresada en términos de PPR, mostró valores de OR de 2,00, 2,41 y 1,49 para el segundo, tercero y cuarto cuartil respecto al primero, siendo sólo significativo para el tercero (IC95%: 1,12-5,19). Cuando las mujeres se estratificaron atendiendo a la mediana de IMC, para las mujeres no obesas se observaron incrementos de riesgo próximos a la significación para el aldrín y el lindano y significativos para la carga estrogénica de la fracción xenobiótica (OR: 2,48; IC 95%: 1,05-5,87) para el cuartil superior versus el de referencia ( $p_{\text{tendencia}} < 0.01$ ). Las mujeres postmenopáusicas con IMC menor a la mediana mostraron un incremento de riesgo para el aldrín, que fue significativo para aquellas mujeres con una mayor carga estrogénica de la fracción xenobiótica (OR: 2,75; IC 95%: 1,14-6,60) ( $p_{\text{tendencia}} < 0.01$ ). Las mujeres postmenopáusicas con IMC mayor a la mediana mostraron incrementos de riesgo para el aldrín, endosulfan-éter y lindano, significativos solo para este último.

**Conclusiones:** La expresión biológica de los xenoestrógenos testados a través del ensayo E-screen se muestra en este estudio como un factor de riesgo para cáncer de mama fundamentalmente para mujeres no obesas y mujeres postmenopáusicas. Esta asociación debe ser valorada en mayor profundidad y puede facilitar la comprensión de los resultados de asociación detectados en diversos estudios, entre la concentración de OC y otros xenoestrogenos en tejidos biológicos (aldrín, endosulfan-éter y lindano en este estudio) y el cáncer de mama.

## Sesión 5. La Unión Europea: Política de investigación en disruptores endocrinos y proyectos con grupos españoles.

### EUROPEAN COMMISSION ACTIVITIES ON ENDOCRINE DISRUPTERS

**Peter Pärt,**

European Commission, Joint Research Centre, I-21020 Ispra, Italy.

([Peter.Part@jrc.it](mailto:Peter.Part@jrc.it))

In December 1999, The European Commission presented a “Community Strategy on Endocrine Disruptors - *a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife* [COM (1999) 706]. A follow-up Communication [COM (2001) 262] was published 2 years later. A number of actions, precautions and priorities for the EU concerning endocrine disruptors are presented in these documents. The communication outlines 3 levels of actions - short-, medium and long term. The **short term** action focuses primarily gathering of information with the priority to produce a list of chemicals with suspected ED activity to be considered for regulatory actions. The **medium term** action is the development and validation of testing methods and a testing strategy while **the long term** actions are the review and adaptation of existing laws and legislation, governing the testing, assessment and use of chemicals and substances within the EU.

A two step procedure has been used in identifying ED chemicals. In step 1, 553 chemicals were identified based on a) production volume, b) persistence, c) exposure and/or d) ED/reprotoxic effects. Of these 553 chemicals, 118 had indications of ED effects but 109 of these were already under regulation because of their toxic or persistent properties. Remains 9 chemicals with indications of ED activity, chemicals that are currently not regulated, controlled or monitored. In step 2, based on the recommendations from the Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE), these 9 chemicals + 3 synthetic or natural hormones (oestrone, oestradiol, ethinyloestradiol) were subjected to an in-depth analysis of their ED properties. This study has just been concluded. A second priority in step 2 was to find additional information on the remaining 435 (553-118) chemicals on which indications of possible ED activity was insufficient.

The ED Communication specifically addresses research. In the fourth framework program (1995-1998), 12 million Euro was spent on projects dealing with different aspects of ED. In the 5<sup>th</sup> Frame Work program the efforts increased to 60 million Euro of which 20 millions were “earmarked” within a dedicated call to support the ED Communication (the CREDO cluster). The projects financed by FP 5 mainly address a) development of test methods for chemicals, b) monitoring of ED effects in the environment, c) fish and invertebrate endpoints and d) exposure of humans and possible health effects (low dose, combined effects).

In addition, in June this year the Commission launched a Communication on an Environment and Health Strategy [COM (2003) 338] with an emphasis on children. Endocrine disruptors is one of 4 priority areas together with childhood cancer, respiratory disease and neurodevelopmental disorders. Currently an action plan for the period 2004-2010 is being prepared as a follow-up of the Communication, to be presented at the WHO Ministerial Conference on Environment and Health in Budapest 23-25 June 2004.

## Proyecto EDEN

*Manuel Tena-Sempere.*

Sección de Fisiología, Universidad de Córdoba. 14004 Córdoba. E-mail: [filtesem@uco.es](mailto:filtesem@uco.es)

El proyecto EDEN (*Endocrine Disrupters: Exploring Novel Endpoints, Exposure, Low-Dose and Mixture-Effects in Humans, Aquatic Wildlife and Laboratory Animals*; QLK4-2002-00603) es un consorcio formado por 21 laboratorios y grupos de investigación de 9 países (UK, Dinamarca, Finlandia, Francia, España, Bélgica, Suecia, Holanda y Alemania) de la Unión Europea además de Suiza, coordinados por el Dr. Andreas Kortenkamp (The School of Pharmacy, University of London, UK). Este consorcio concurre a la convocatoria especial de proyectos sobre disruptores endocrinos de la Unión Europea (*Joint Dedicated Call for Proposals for RTD Actions on the Health and Environmental Implications of Endocrine Disruptors*; QoL/ENV-2001-EN, Septiembre 2001) dentro del V Programa Marco de Investigación, siendo financiado con un total de 8.641.008 euros. La fecha de inicio del proyecto fue 1 de diciembre de 2002, y su duración total es de 4 años. El proyecto EDEN está estructurado en 4 áreas temáticas y engloba 17 sub-proyectos, que cubren los aspectos más relevantes indicados en la convocatoria QoL/ENV/2001-EN: la identificación de nuevos mecanismos y biomarcadores de exposición a disruptores endocrinos (EDC), el análisis de efectos de bajas dosis y mezclas de EDC, y la evaluación del impacto de la disrupción endocrina sobre especies animales y la salud humana. Una descripción exhaustiva de los contenidos y equipos de investigación integrados en el proyecto EDEN puede encontrarse en la dirección: [www.edenrecherach.info](http://www.edenrecherach.info). Es de destacar que del total de proyectos que concurren a la convocatoria QoL/ENV/2001-EN, sólo 4 fueron financiados (EDEN, COMPRENDO, EURISKED y FIRE). Éstos fueron finalmente integrados en un clúster denominado CREDO (*Cluster of Research on Endocrine Disruption in Europe*), que pretende constituirse en una plataforma europea competitiva que permita resolver las cuestiones científicas relativas a la disrupción endocrina y aportar elementos con los que elaborar las políticas de prevención en el marco de la EU. La plataforma CREDO está constituida por los 4 proyectos integrantes arriba mencionados (que suponen más de 60 grupos de investigación europeos y más de 20 millones de euros de financiación), además de un total de 9 proyectos asociados financiados en convocatorias previas del V-FP. Una descripción completa de los objetivos e integrantes del clúster CREDO puede encontrarse en la dirección: [www.credocluster.info](http://www.credocluster.info).

## **COMPRENDO Project (Comparative Research on Endocrine Disrupters)**

**Ramón Lavado Parra, Cinta Porte.**

CID-CSIC Barcelona

*[www.comprendo-project.org](http://www.comprendo-project.org)*

COMPRENDO as an interdisciplinary, integrated approach addresses endocrine disruption in human and wildlife species, focussed on androgenic/antiandrogenic compounds (AACs). The project will identify human and environmental exposures to AACs. A variety of human-relevant models (cell lines, tissues, rodents) and wildlife species (amphibians, fish, echinoderms, crustaceans, molluscs) will be exposed to 13 chemicals and various environmental samples to develop new biological effect measures, including a molecular screen for genomic AAC effects. Common principles of AAC action will be identified and new models for the extrapolation on human health developed. Lab cultures of suitable invertebrates will be established and their baseline endocrinology analysed, facilitating the use of these species as standard test organisms. Finally, an evaluation of the risk originating from AACs for humans and wildlife will be performed.

**CASCADE (*Chemicals as contaminants in the food chain: An NoE for research, risk assessment and education*) una red de excelencia (NoE) en salud humana y riesgo medioambiental.**

**M. Fernández**

Hospital Clínico Granada

CASCADE es una red de excelencia que tiene por objeto estudiar contaminantes químicos en la cadena alimentaria como factores de riesgo en salud ambiental. Está liderado por el Instituto Karolinska de Estocolmo (Suecia) y participan grupos de Italia (3), Alemania (4), Francia (3), España (1), Finlandia (2) y Holanda (1). Incorpora, además, PYMEs entre las que se encuentra Puleva Biotech de España y centros de investigación de países candidatos a la UE (Hungría). Los objetivos de CASCADE son: i) Proporcionar a los consumidores europeos información precisa sobre los efectos para la salud asociados a la exposición química a través de los alimentos; ii) Crear entre la comunidad científica conciencia sobre la necesidad de considerar aspectos muy distintos en el campo de la exposición a residuos químicos (dosis-efecto, control genético, variación entre especies); iii) Promover la relación interdisciplinar entre los científicos en este área; iv) Proporcionar educación e información a los científicos en formación, a las organizaciones de consumidores y a las autoridades; v) Generar nuevos datos sobre los mecanismos de acción de los residuos químicos contaminantes en los alimentos; y vi) Establecer una integración progresiva y duradera de las capacidades investigadoras europeas en este campo. El éxito en el desarrollo de CASCADE pasa por la consecución armónica de los tres aspectos que distinguen una NoE de un proyecto de investigación: la **integración científica**, la **información** y la **formación**, y, de forma particular para, CASCADE la **evaluación del riesgo**. Todos estos aspectos están supervisados por un **Consejo de Control Científico**, formado por científicos expertos independientes, de carácter permanente y multinacional que realizarán periódicamente un informe de control y evaluación. El **Programa Conjunto de Actividades** en torno al cual CASCADE se estructura, contempla las acciones siguientes: i) Nuevos métodos de detección, ii) Screening basado en mecanismos de acción; iii) Nutrogenómica y Toxicogenómica; iv) Análisis metabólico; v) Comparación entre especies y vi) Desarrollo de enfermedad. La red se contempla con una duración de cinco años aunque serán los primeros 18 meses los decisivos para su continuidad.

Dr. D.Manuel Carrasco Mallén  
 Director  
 Fondo de Investigaciones Sanitarias  
 Instituto de Salud Carlos III  
 Madrid

Querido amigo:

Pedí cita en al Secretaría del FIS para tener una entrevista contigo pero muy amablemente me advirtieron que tu agenda estaba bien saturada y que para asuntos particulares de proyectos y convocatorias el Dr. Domingo podría resolver problemas concretos. No era este el caso, por lo que siguiendo la recomendación de la persona que me atendió, te envió este email con el ruego de que lo leas y, si consideras oportuno, tengamos una entrevista para completar alguna información.

Trataré de ser sintético y preciso y hacerte llegar los comentarios en la forma mas resumida.

**La consolidación del grupo/consorcio:** Creo que hemos conseguido consolidar un nombre (Ahora lo llamamos Medicina Ambiental-Disrupción Endocrina, MADE) y unas ideas sobre salud y medioambiente. Gracias a la financiación de diversos organismos, a la confianza mostrada por aquellos que han creído que teníamos algo que decir y hacer, y que lo íbamos a hacer de forma independiente y honesta, hoy producimos datos científicos basados en observación básica, clínica y epidemiológica seria y de referencia para muchos. Hicimos una apuesta por la epidemiología a sabiendas que los resultados se iban a dilatar en el tiempo y que el criticismo de los evaluadores (proyectos, referees, reviewers, etc...) iba a ser especialmente duro. Hicimos una apuesta por el contacto exterior y la difusión de las ideas asistiendo a toda clase de foros sin menospreciar entidades y organizaciones. Me encargué personalmente de dar la cara por todos y asumir sus consecuencias. Ahora creo que somos referente para algunos aspectos de salud ambiental y que es difícil separar disrupción endocrina de la actividad de nuestro grupo (A este respecto la conferencia nacional de Disruptores Endocrinos (CONDE-VI) de Elche, programada para el 26 y 27 de noviembre es un buen foro para hacernos ver). Representamos España en los foros internacionales.

**Nuestra participación en proyectos de financiación nacional** (FIS y Acciones Especiales MCYT) y en las redes FIS de grupos y de centros nos está permitiendo mantener una actividad de investigación realmente interesante, tanto por la producción de datos como por su tratamiento holístico. La producción científica que ha sido continua creo que experimentará en los próximos dos años unas cotas muy interesantes, dada la cantidad tan importante de datos generados en los diferentes campos de la exposición humana a contaminantes medioambientales y el número de manuscritos en preparación. A este respecto debo decirte para satisfacción nuestra y del FIS que subvencionó la investigación, que una de nuestras publicaciones de 1996 se ha colocado entre las mas citadas de la historia de la Universidad de Granada debido a su impacto en la comunidad científica y sus repercusiones en seguridad medioambiental.

**Nuestra participación en Europa** es fruto del trabajo previo hecho bajo financiación nacional y de nuestro atrevimiento en presentarnos en Europa y negociar nuestra colaboración en cualquier acción que fuese de nuestro interés, a pesar de que en muchos de los casos hubiera que adaptar nuestros intereses particulares a los objetivos de las acciones propuestas. La participación en estos proyectos comenzó en 1994 como subcontratados de un socio de la industria (Petresa), continuó en el 98 con la titularidad como socios en proyectos del 5º Programa Marco y ahora nos lleva a ser los únicos miembros de España en una Red de Excelencia en Salud Humana y Medioambiente (CASCADE). Esta NoE esta programada para cinco años. Su objetivo es el estudio de la exposición humana a sustancias químicas vehiculizadas por los alimentos. La clave es la integración y la docencia.

Aparentemente todo muy bien. Lo real: el sentimiento de desaprovechar las oportunidades, por falta de espacio, de apoyos políticos y técnicos y de entendimiento por parte de nuestros interlocutores. Cuantas horas perdidas en la Universidad y en la Consejería de Salud tratando de

hacerles ver que eso que ellos buscan y proponen es lo que nosotros hacemos!!! ¿Como hacer ver a individuos sin experiencia en la investigación y aun menos en la gestión de la investigación, que vayan mas allá del manejo de unos pocos euros para fondos localistas, que las apuestas de futuro las tienen delante de sus manos?. Vemos a los políticos locales desesperarse por sacar adelante ideas que no entienden y que parecen servir a objetivos ajenos y estar ciegos a lo que realmente nos daría la posibilidad de ocupar una posición destacada en el mundo científico.

Creo que las oportunidades se las construye uno mismo, pero me desespera ver la ceguera local. Ahora se discuten acciones para el Campus de la Salud, para los nuevos edificios de investigación, para nuevas intervenciones; pero realmente creo que muy pocos saben lo que buscan ni cual es el sentido de esas nuevas instalaciones. De hecho aun tenemos dificultades para convencer a la Gerencia del Hospital para que busque a alguien que pueda representar los intereses de la institución en el reparto de posiciones en torno al proyecto. Esa persona no existe y sería una lástima que nadie supiera o pudiera hablar en nombre de la institución sanitaria, fuera de lo que políticos hayan ya negociado.

En definitiva, quería hacerte saber que seguiremos presionando y actuando para ser algún día referentes en evaluación del riesgo en salud humana; que intentaremos aunar los esfuerzos de todos los clínicos e investigadores que nos rodean y que espero que no desfallezcamos en el intento.

Quedo a la espera de tus comentarios, si es que esta carta te sugiere alguno en particular. En cualquier caso mi intención era informarte sobre la situación, la esperanza en los nuevos planes para la investigación local y la gestión del conocimiento.

P.S. La semana pasada escribí un documento que acompaña a esta carta en el que justificaba nuestra actividad investigadora en el Hospital Clínico y Universidad de Granada en torno a estos temas en una petición de Infraestructura en la última convocatoria del ISCIII. Relataba los proyectos de los últimos años y lo que han significado en el fortalecimiento de las actividades del hospital. Por esta razón te la remito acompañando esta carta.

Ha aparecido recientemente, en el número de octubre de *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* (12:953-957) un artículo firmado por Andreas J Gescher y Willian P. Steward de la Universidad d Leicester (UK) sobre las premisas que permitirían plantear un estudio clínico fase I para el empleo de resveratrol como compuesto de utilidad en la prevención del cáncer. Resveratrol (3,5,4'-trihidroxitransstilbeno) es una fitoalexina presente en uvas negras, moras, cacahuetes y plantas de la familia *Cassia quinangulata* de conocida actividad estrogénica en algunos modelos *in vitro* y con similitud estructural al dietilestilbestrol (DES).

El énfasis del artículo se hace en resolver el puzzle que significa integrar la información proveniente de los estudios *in vitro*, utilizando bioensayos basados en el uso de líneas celulares de diferente origen, los datos proporcionados por estudios metabólicos en animales de experimentación y los resultados obtenidos en unos pocos modelos en los que resveratrol ha resultado ser un excelente agente protector en la inducción experimental de cáncer. No obstante, la mayor dificultad para compaginar los estudios existentes hasta la fecha es el hecho de que la concentración de reseveratrol necesaria en el tejido blanco del carcinógeno que pueda ejercer un efecto quimio-protector está definida por rangos muy precisos de dosis útiles en estudio *in vitro* con efectos muy distintos.

De forma resumida, dos hechos son de un interés indudable: i) la gran eficacia de resveratrol como agente protector de la inducción química de tumores, ii) el amplio espectro de efectos que se han asociado con el tratamiento con resveratrol en los modelos *in vitro*. A este respecto, es de gran interés para nuestra experiencia con los fitoestrógenos el hecho de haber descrito un comportamiento paradójico en cuanto a la estrogénicidad antiestrogenicidad de estos compuestos. A bajas dosis el efecto es antagonista y el incremento de las dosis se resuelve en un efecto agonista estrogénico. Respuestas en U y U-invertida son cada vez mas frecuentes cuando se ha dispuesto de modelos lo suficientemente sensibles y se ha explorado de forma particular este hecho.

Resulta muy interesante el hecho de que los modelos de carcinogénesis en que reesvertarol ha mostrado el efecto preventivo sean no solo de cáncer mamario (ratas/NMU y DMBA) si no también en cáncer de colon (ratas/AOM) y esófago (ratas/NMBA). Además es interesante el hecho de que en algunos modelos de ratones el efecto inhibitorio sobre la inducción química de tumores esté restringido a los animales macho, existiendo una diferencia de respuesta entre géneros, en favor del macho.

En otras palabras, podrán los estudios fase I en humanos conseguir dosis plasmáticas de resveratrol necesaris para alcanzar el efecto deseado

Varias acciones se definen prioritarias en vista al diseño de ensayos en los que resveratrol se emplee como quimioprotector frente a la inducción de tumores: i) nuevos estudios sobre la eficacia de resveratrol en modelos que además incluyan la medida de resveratrol y sus metabolitos en tejidos blanco; ii) biodisponibilidd de resveratrol en humanos, iii) metabolitos de resveratrol en humanos; iv) estudios sobre el mecanismo de acción de resveratrol y sus metabolitos en concentraciones de orden nM.

Propuesta: i) continuar nuestros estudios *in vitro* con resveratrol; ii) definir curvas dosis-efecto precisas; iii) estudiar resveratrol y sus metbolitos en tejidos humanos; iv) explorar resveratrol en productos naturales.

**RESÚMENES**  
**DE**  
**COMUNICACIONES EN CARTELES**



P01

## DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS (DDT Y DERIVADOS) EN 685 INDIVIDUOS REPRESENTATIVOS DE LA POBLACIÓN CANARIA

O.P. Luzardo<sup>1</sup>, M. Zumbado<sup>1</sup>, M. Goethals<sup>1</sup>, F. Cabrera<sup>1</sup>, C. Crespo<sup>1</sup>, L. Serra<sup>2</sup>, E. Álvarez<sup>3</sup> y L.D. Boada<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Toxicología, <sup>2</sup>Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública, Dpto. de Ciencias Clínicas, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>3</sup> Servicio de Medicina Preventiva. Complejo Hospitalario Materno-Insular de Gran Canaria, Servicio Canario de Salud. [ldominguez@dcc.ulpgc.es](mailto:ldominguez@dcc.ulpgc.es)

Los pesticidas organoclorados (OCs) son contaminantes universalmente extendidos, detectables en la práctica totalidad de los sistemas biológicos debido a su alta estabilidad y liposolubilidad. Son considerados disruptores endocrinos por su conocida actividad estrogénica. El presente estudio determina la presencia del DDT y sus metabolitos (2,4'-DDT; 4,4'-DDT; 2,4'-DDD; 4,4'-DDD; 2,4'-DDE y 4,4'-DDE) en una muestra representativa de la población del Archipiélago Canario. MATERIAL Y MÉTODOS: Se seleccionaron 685 muestras de suero de individuos de 6-75 años (44,7% hombres) participantes en la Encuesta Nutricional de Canarias (ENCA 97-98). Las muestras fueron sometidas a extracción líquido-líquido con n-hexano con posterior concentración en corriente de N<sub>2</sub>. Se empleó un método de detección normalizado mediante GC- $\Phi$ ECD. El límite de detección analítico establecido para todos los productos fue de 1 ppb. Los valores se ajustaron por la concentración de lípidos totales en suero. RESULTADOS: a) El 99,3% de la población mostró niveles detectables de estos compuestos. b) El porcentaje de muestras en que se detectaron los compuestos y la concentración media y desviación típica en ng/g de lípidos fue: 2,4'-DDE 1.2%/1.75 $\nabla$ 17.01; 4,4'-DDE 87.9%/185.50 $\nabla$ 249.97; 2,4'-DDD 6.4%/36.02 $\nabla$ 181.23; 4,4'-DDD 20.3%/31.23 $\nabla$ 93.72; 2,4'-DDT 40.0%/160.09 $\nabla$ 285.80 y 4,4'-DDT 43.0%/176.46 $\nabla$ 347.12. c) La carga total de DDT (incluye el mismo y metabolitos) tuvo valores de 99.3%/588.94 $\nabla$ 764.87. d) Las mujeres presentaron concentraciones medias superiores a los hombres, significativo en el caso del 4,4'-DDE (p<0,0001). e) La concentración de 4,4'-DDE y la carga total de DDT aumentaron con la edad, sobre todo a partir de los 35 años (p< 0,001). f) La isla de Gran Canaria presentaba niveles superiores de carga total de DDT y de los isómeros 2,4'-DDT y 4,4'-DDT (p<0,05). g) La carga total era significativamente mayor en núcleos urbanos grandes (>100000 habitantes).

CONCLUSIONES: Este es el primer estudio que describe la concentración de determinados OCs en la población canaria, y uno de los pocos en el mundo con una muestra representativa tan numerosa. La población de las Islas Canarias presenta unos niveles de estos compuestos similares a los registrados en los países europeos de su entorno socioeconómico. El perfil individual asociado a unos niveles más altos es: mujer; >35 años; residente en Gran Canaria y en hábitat urbano. Canarias es la región de España con mayor tasa de incidencia de cáncer de mama, por lo que la presencia de altos niveles de residuos de este tipo de contaminantes en mujeres requiere estudios en profundidad.

**P02****EVIDENCIAS DE DISRUPCIÓN ENDOCRINA EN CARPAS DEL RÍO EBRO*****Ramón Lavado, Rebeca Martín, Cinta Porte***

Química Ambiental, IIQAB-CSIC. C/Jordi Girona, 18. Barcelona.

Se han investigado alteraciones en el sistema endocrino de carpas (*Cyprinus carpio*) tomadas en el tramo medio-bajo del río Ebro en zonas donde predominan aportes industriales, urbanos y agrícolas, y en zonas de referencia. La determinación de vitelogenina (VTG) en plasma, detectada en 4 de los 6 machos capturados aguas abajo de la depuradora de Zaragoza confirma la existencia de efectos estrogénicos. Estos machos también presentaron índices gonadosomáticos (GSI) bajos, niveles de testosterona plasmática reducidos y alteraciones histopatológicas en gónadas, junto con unos niveles altos de alquilfenoles en bilis, lo que indica una reciente exposición a este tipo de compuestos procedentes de los vertidos efectuados por la planta depuradora. Los machos capturados en Flix, área altamente industrializada, no presentaron VTG en plasma, pero sí otras alteraciones como GSI bajos, bajos niveles de testosterona y estradiol en plasma y alteraciones en la espermatogénesis. Las hembras mostraron un retraso en la maduración sexual, además de una inhibición de la actividad aromatasa ovárica, enzima clave de la síntesis hormonal. La elevada exposición a alquilfenoles, presentada por estas carpas, junto con altos niveles de Hg, PCBs y DDTs (procedentes de la industria del cloro) son responsables de las alteraciones descritas. Las carpas (hembras) capturadas en el Canal Imperial de Aragón, que suministra agua potable a Zaragoza y que atraviesa una zona de gran actividad agrícola, presentaron inhibición en la síntesis hormonal.

P03

**RELACIÓN DEL USO DE PLAGUICIDAS CON EFECTO XENOESTROGÉNICO EN LA PROVINCIA DE ALMERÍA***Raquel Alarcón Rodríguez, Carlos Parrón Carrillo, Tesifón Parrón Carreño*

Delegación de Salud de Almería. Junta de Andalucía.  
raquelalarcon@ozu.es, tesifon.parron@juntadeandalucia.es

La provincia de Almería, por sus características geográficas, es probablemente la zona con mayor concentración de invernaderos a nivel mundial. Esta agricultura intensiva desarrollada en invernaderos, se caracteriza por un uso elevado de plaguicidas, situándose a la cabeza del consumo en la Comunidad Autónoma. El uso de plaguicidas en la agricultura es un caso de interés en lo referente a la exposición humana a sustancias químicas con efecto xenoestrogénico. Los plaguicidas más utilizados son los Nematicidas con un consumo de 3.634 Tm, seguidos de los Fungicidas e Insecticidas con un consumo de 2.152 Tm y 2.016 Tm respectivamente. A pesar de que cada vez se utilizan un mayor número de medidas preventivas en la lucha contra plagas y enfermedades, el incremento en el uso de plaguicidas, muchos de ellos con actividad estrogénica, ha sido muy relevante en los últimos años, como consecuencia de la problemática causada por numerosas plagas, no obstante, se ha producido una ralentización del crecimiento del consumo de fitosanitarios en los últimos años.

P04

## **EFFECTS OF NONYLPHENOL EXPOSURE – GONADAL HISTOLOGY AND VITELLOGENIN INDUCTION IN CRUCIAN CARP (*Carassius carassius*)**

*M.S. Diniz(1), I. Peres1 and J.C. Pihan(2)*

1Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Dep. de Ciências e Engenharia do Ambiente, Quinta da Torre – 2825 Monte da Caparica, Portugal

2Université de Metz – Laboratoire Biodiversité et Fonctionnement des Écosystèmes Campus Bridoux – 57070 Metz Borny, France

There is an increasing concern on the potential effects of EDCs (Endocrine Disruptor Compounds) in wildlife. Several studies have shown that sewage treatment plants (STPs) are point sources for these chemicals into the aquatic environment.

Alkylphenol polyethoxylates (APEs) are non-ionic surfactants, widely used in many domestic and industrial products. The bio-degradation leads to the formation of several metabolic compounds such as nonylphenol that are more toxic than the parent compound and possess estrogenic activity.

In order to investigate the estrogenic potency of nonylphenol, 48 crucian carps were placed randomly in four glass aquaria (30 L). Fish were exposed during 28 days in a semi-static experiment to nominal concentrations of nonylphenol, ranging from relevant to non-relevant environmental concentrations (0, 1, 25 and 100 mg/l). At the end of the experiment the fish were sampled and blood collected for vitellogenin analysis using ELISA. Fish were sacrificed and gonads and liver removed, weighed and expressed as the gonadosomatic (GSI) and hepatosomatic indices (HSI). Samples of the extracted organs were fixed in Bouin's fixative and processed following the usual histological techniques. The results show that all exposed male fish show significant elevated levels of VTG in blood plasma even at 1mg/l concentrations. A reduction in the GSI was also observed with more pronounced effect in fish exposed to 100 mg/l. Although no occurrence of testis-ova was observed, exposed fish show a progressive reduction to total inhibition of spermatogenesis.

This study gives a valuable contribute to a better understanding of the estrogenic potency of nonylphenol, usually considered a weak xenoestrogen and often present in STPs treated effluent.

P05

## **SCREENING ENDOCRINE DISRUPTORS COMPOUNDS IN A PORTUGUESE WASTEWATER TREATMENT PLANT USING ENZYME LINKED IMMUNOASSAY (ELISA).**

*Maurício, R., Diniz, M., Amaral, L., Peres, I., Santana, F.*

Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Dep. de Ciências e Engenharia do Ambiente, Quinta da Torre – 2825 Monte da Caparica, Portugal

Anthropogenic compounds that are able to disrupt the endocrine systems of wildlife species are a major cause for concern and lead to a demand for new screening methods. The presence and quantification of EDCs (Endocrine Disruptor Compounds) at different wastewater treatment stages is of major interest to identify endocrine activity of wastewater treatment plants (WWTPs) discharges to the environment.

This study consists in a preliminary survey of concentrations of previously selected EDCs, undertaken to establish environmental concentrations to support a biological program assay exposing freshwater fish, evaluate removal efficiency at different stage wastewater treatment processes and study the kinetics of bioremoval of EDCs under aerobic/anaerobic conditions in order to achieve information for the optimization removal in the WWTPs.

Selected endocrine disrupting chemicals (APEs, BPA and 17 beta-estradiol) were measured in samples from a WWTP located in Lisbon (Portugal), using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit developed by Takeda Industries Ltd.

The sample treatment method involved a solid phase extraction step using Oasis HLB (Waters) cartridges from wastewater and sludge samples. Sub-samples were also taken and analyzed by LC-MS-MS.

A short consideration is made concerning ELISA and LC-MS-MS methods and results obtained by these two methods are also under discussion. The results show that after treatment EDCs are still present in the effluent and sludge at environmental relevant levels and vary along the different wastewater treatment stages process.

P06

**RESUMEN DEL INFORME FINAL UE  
“ESTUDIO SOBRE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN EL AGUA  
DE BEBIDA”****1ª PARTE. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO.****Jaime Roset Álvarez, Francisco Marqués Marqués, Remedios Hernández Hernández, Elena Ordaz Castillo y Margarita Palau Miguel.**

Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. Madrid. [jroset@msc.es](mailto:jroset@msc.es)

En febrero de 2003 se presentaron los resultados de un proyecto de investigación financiado por la Unión Europea titulado “Estudio sobre disruptores endocrinos en el agua de bebida” (B3-4305/2000/308717/MAR/D1). España, a través del Ministerio de Sanidad y Consumo (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral), intervino con la colaboración con diversas entidades de gestoras del agua de consumo, enviando información y análisis disponibles sobre sustancias consideradas disruptores endocrinos (DEs) en diversos abastecimientos Españoles. En esta primera parte, se presenta un resumen de los objetivos y del planteamiento. El trabajo pretendía obtener datos de los Estados Miembros sobre la presencia de disruptores endocrinos en aguas de bebida (tanto antes como después del tratamiento), así como el grado de exposición a los humanos. Para ello se realizó un estudio bibliográfico en profundidad, una encuesta a las autoridades sanitarias y a las empresas de abastecimiento de 15 países europeos, solicitando datos de seguimiento analítico e información general sobre DEs en aguas de consumo, así como un caso particular en tres ETAPs de diferentes países, en los que se midieron diversas sustancias DEs antes y después del tratamiento de potabilización.

P07

**RESUMEN DEL INFORME FINAL UE “ESTUDIO SOBRE DISRUPTORES ENDOCRINOS EN EL AGUA DE BEBIDA”  
2ª PARTE. RESULTADOS DE LA ENCUESTA A LOS ABASTECEDORES Y CONCLUSIONES GENERALES DEL ESTUDIO.**

*Jaime Roset Álvarez, Francisco Marqués Marqués, Remedios Hernández Hernández, Elena Ordaz Castillo y Margarita Palau Miguel.*

Ministerio de Sanidad y Consumo. Dirección General de Salud Pública. Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral. Madrid. [jroset@msc.es](mailto:jroset@msc.es)

En febrero de 2003 se presentaron los resultados de un proyecto de investigación financiado por la Unión Europea titulado “Estudio sobre disruptores endocrinos en el agua de bebida” (B3-4305/2000/308717/MAR/D1). España, a través del Ministerio de Sanidad y Consumo (Subdirección General de Sanidad Ambiental y Salud Laboral), intervino con la colaboración con diversas entidades de gestoras del agua de consumo, enviando información y análisis disponibles sobre sustancias consideradas disruptores endocrinos (DEs) en diversos abastecimientos Españoles. En esta segunda parte, se presenta un resumen de los resultados de la encuesta a los abastecedores y las conclusiones generales del estudio. La participación de los diferentes Estados Miembros, aunque no fue muy amplia, permitió un acercamiento a la situación de la presencia de DEs en aguas de bebida. Entre las conclusiones, cabe destacar la necesidad de normalizar los métodos de análisis y ensayo de disruptores endocrinos, antes de realizar más estudios de seguimiento a escala europea.

P08

## **CUANTIFICACION DEL RESIDUO DE BISFENOL-A Y DE LOS FTALATOS DBP Y DEHP EN MUESTRAS DE PAPEL RECICLADO Y MEDIDA DE ACTIVIDAD HORMONAL ESTROGÉNICA**

**JM Molina-Molina<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, P Araque<sup>1</sup>, C López<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, B. Ramos<sup>4</sup> N Olea<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Química-Física. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE <sup>4</sup>OCU-Compra Maestra, Madrid. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Se ha recomendado que la utilización de materiales reciclados para envases de alimentos se debería acompañar de los estudios pertinentes que asegurasen la inocuidad del material empleado. Con objeto de investigar la presencia en envases alimentarios de componentes químicos que puedan difundir al alimento y que son conocidos disruptores endocrinos (DE) se ha llevado a cabo un estudio consistente en la extracción y análisis químico y biológico de 40 muestras de papel/cartón reciclado, procedentes de Italia, Bélgica, Portugal y España. Los envases habían contenido patatas fritas, churros, hamburguesas y pizzas, entre otros alimentos. De cada muestra se separó la capa en contacto directo con el alimento. La metodología químico-analítica para el análisis de bisfenol A (BPA) y los ftalatos dietil-hexil ftalato (DEHP) y dibutil ftalato (DBP) se basa en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Los resultados obtenidos son confirmados mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG/EM). Los extractos se procesan en el test E-Screen con el fin de estimar la actividad estrogénica atribuible a los compuestos químicos extraídos. Los resultados muestran que BPA está presente en el 88% de los envases portugueses analizados frente al 60% de las muestras españolas y belgas. DBP se ha detectado en el 100% de las muestras belgas y portuguesas respecto al 80% de los envases procedentes de Italia. DEHP ha sido detectado en el 100% de los envases belgas y portugueses respecto al 80% de los italianos. La actividad estrogénica medida en el extracto de los envases indica que la totalidad de los envases belgas presentan positividad en el test E-Screen frente al 70% de las muestras analizadas procedentes de Italia y Portugal. La media de estrogenicidad en estas muestras es de Eeq/g de. Tanto el residuo de compuestos químicos disruptores endocrinos como la actividad estrogénica de estas muestras cuestiona la seguridad del empleo de materiales reciclados en los envases alimentarios.

*Financiación: OCU-Compra Maestra*

P09

## EVOLUCIÓN DE LA CARGA ESTROGÉNICA (TEXB) Y DEL RESIDUO DE ORGANOCLORADOS EN TEJIDO ADIPOSEO Y SUERO EN EL CURSO DEL TRATAMIENTO EN CÁNCER DE MAMA.

*P Araque<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, I Cerrillo<sup>1</sup>, JM Molina-Molina<sup>1</sup>, F Huertas<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup> V Pedraza<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Cirugía. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Objetivo de este estudio es medir de forma continuada y repetida en el tiempo, durante el curso del tratamiento quimio- y radioterápico, los niveles de pesticidas y la evolución de la carga estrogénica total efectiva (TEXB) en pacientes afectas de cáncer de mama. Se han seleccionado 35 pacientes de cáncer mamario, edad media 60 años, intervenidas quirúrgicamente en el Hospital Clínico de Granada, que se sometieron a un cuestionario que recogió información sobre hábitos de vida, antecedentes reproductivos y actividad laboral. Las muestras de tejido adiposo y sangre se tomaron: i) al tiempo de la intervención y ii) pasados tres meses de la misma. La cromatografía HPLC permitió separar fracciones que contienen xenoestrógenos (a) y estrógenos ováricos (β). Se determinó la presencia de 18 organoclorados mediante CG/DCE, con confirmación en CG/EM. El ensayo E-Screen se empleó para estimar la TEXB de las fracciones cromatográficas. Los resultados indican que en el momento de la intervención y en la primera revisión, el pesticida hallado en mayor concentración es el p,p'-DDE (M=427,97 ng/g lípido y 338,65 ng/g lípido, respectivamente). En suero, el fungicida vinclozolina fue el compuesto más abundante con una concentración media de 2011,44 pg/ml en la intervención y 1782,25 pg/ml en la primera revisión. En el ensayo E-Screen, el 60% de las muestras de tejido adiposo procedentes de la intervención presentaron positividad en la fracción a (TEXB, M=168,85 pM Eeq/g lípido) mientras que un 94,3% de las fracciones β fueron positivas (TEXB, M=73,94 pM Eeq/g lípido). El 77,1% y el 97,1% de las muestras de tejido adiposo de la primera revisión fueron positivas para las fracciones a y β, respectivamente, con unos valores medios de 10,96 pM Eeq/g lípido y 136,18 pM Eeq/g lípido. En resumen, las intervención terapéutica implementada condiciona la movilización de organoclorados/estrógenos y por ende la actividad hormonal cuantificada mediante el TEXB.

*Financiación: FIS 02/1314*

P10

**EXPOSICIÓN MATERNO INFANTIL A DISRUPTORES ENDOCRINOS: SUSTANCIAS QUÍMICAS CON EFECTO ESTROGÉNICO EN PLACENTAS DE MADRES DANESAS**

*J Carreño<sup>1</sup>, JM Molina-Molina<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, MJ López,<sup>1</sup> MI Gonzalez<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, AM Anderson<sup>2</sup> N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>University Hospital, Copenhagen. Dinamarca. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Se ha acuñado el término de disruptores endocrinos para definir el conjunto heterogéneo de compuestos químicos que interaccionan con el sistema hormonal. Con objeto de demostrar la exposición materno-infantil a disruptores endocrinos se ha medido la actividad estrogénica del extracto de placentas procedentes de madres danesas, trabajo que se incluye dentro de un proyecto europeo que estudia la influencia de factores medioambientales en la salud reproductiva masculina. De las muestras de placenta homogenizadas (1´6 g) se extraen los posibles contaminantes empleando una columna de alúmina y n-hexano. Los extractos se purifican mediante HPLC, obteniéndose dos fracciones: ? (0-11 min) en la que eluyen los componentes mas lipofílicos y ? (13-25 min) en la que eluyen componentes mas polares (polifenoles y hormonas). Ambas fracciones se analizan en el test de estrogénicidad E-Screen, mediante la estimación de la carga estrogénica total efectiva (TEXB). Nuestros resultados indican que un 94% de las muestras son estrogénicas en la fracción ? ? ? X? ? ? 11.29 pM Eq E<sub>2</sub>/g placenta). La actividad estrogénica de esta fracción está asociada al efecto combinado (sinérgico, aditivo o antagónico) de los componentes químicos extraídos. La fracción ? presenta 96% de muestras positivas (TEXB, M = 67.19 pM Eq E<sub>2</sub>/g placenta), y se asocia con la presencia de estrógenos endógenos. El alto porcentaje de positividad en el test E-Screen de la fracción ? indica la presencia de compuestos xenobióticos, contaminantes ambientales, con actividad hormonal en placentas humanas por lo que es conveniente proseguir la investigación para establecer tanto el origen como las implicaciones médicas de esta contaminación. Además sugiere que el uso de biomarcadores como el propuesto (TEXB) es de tanto interés como la medida de compuestos químicos para estudiar la exposición materno infantil a disruptores endocrinos

*Financiación: 5º Programa Marco UE. Envir Reprod.Health*

P11

## PRESENCIA DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS EN LA POBLACIÓN MASCULINA JOVEN EN EL SURESTE PENINSULAR

*J Carreño<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, M Fernández<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, I Durán<sup>2</sup>, MD Cruz<sup>2</sup>, C Avivar<sup>2</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Laboratorio Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio, Granada. <sup>2</sup>Unidad de Biotecnología. Hospital de Poniente, Almería. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Con objeto de caracterizar la exposición a pesticidas organoclorados disruptores endocrinos en la población joven se determinó la presencia de 17 pesticidas en sangre de 273 voluntarios residentes en Almería. La recolección de muestras se llevo a cabo entre enero/2001 y diciembre/2002. Se realizó un cuestionario epidemiológico, examen físico, análisis sanguíneo y estudio de calidad seminal. El análisis químico se realizó mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones y la confirmación de los resultados por cromatografía de gases con espectrometría de masas. Se cuantificó la presencia de vinclozolina, hexaclorobenceno, lindano, endosulfán y metabolitos, DDT y metabolitos, aldrin, dieldrin, endrin, metoxicloro, mirex. Los resultados indican que se trata de una muestra jóvenes universitarios (80,3%), con media de edad 20,7 años, sin antecedentes conocidos de patología reproductiva y sin padecimiento de enfermedad crónica. Entre los resultados analíticos cabe destacar que p,p'DDE, metabolito principal del DDT con actividad estrogénica y anti/androgénica, se encontró en el 97,5% de las muestras. La vinclozolina, pesticida con actividad antiandrogénica, sigue en frecuencia de aparición al DDE y se identificó en un número importante de muestras (95,5%). Conclusión: Existe una exposición a pesticidas organocloradas con actividad hormonal (estrogénica y/o antiandrogénica) en la población masculina joven. La implicación de esta exposición en la salud reproductiva de la población necesita ser investigada por lo que se han iniciado trabajos con este fin.

*Financiación: 5º Programa Marco Unión Europea. Envir Reprod. Health.*

P12

## **RIESGO DE EXPOSICIÓN LABORAL DE LOS CUERPOS DE PREVENCIÓN Y EXTINCIÓN DE INCENDIOS (SEPEI) A DISRUPTORES ENDOCRINOS.**

**C Carvajal Rodríguez C<sup>1</sup>, M Mariscal Arcas<sup>1</sup>; M Martín Matilla<sup>1</sup>, M Jiménez Torres<sup>1</sup>, I Cerrillo García<sup>1</sup>, F Olea Serrano<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. [folea@ugr.es](mailto:folea@ugr.es)

Hay profesiones con un riesgo elevado de exposición a sustancias persistentes que se producen al azar en el medio ambiente. En este grupo se encuentran los cuerpos de prevención y extinción de incendios (SEPEI). Existen recomendaciones para prevenir una exposición incontrolada a los productos que se generan en un incendio. El grupo SEPEI del poniente de Almería está evaluando los riesgos potenciales de la zona para poder adoptar medidas preventivas, fundamentalmente de exposición por vía respiratoria. Hasta el momento se han codificado la exposición a moléculas organocloradas persistentes, muchas de ellas con efecto disruptor endocrino (Dioxinas, PCBs, PBBs), producidas a partir de los incendios en almacenes familiares, quema de residuos agrícolas y algunas otras situaciones accidentales. Se trata de describir cuáles son las medidas más adecuadas de prevención a esta exposición.

P13

**EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN LA POBLACIÓN FEMENINA DEL SURESTE PENINSULAR. INFLUENCIA DE LAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS Y EL ESTILO DE VIDA.**

*I Cerrillo<sup>1</sup>, P Araque<sup>1</sup>, M Fernández<sup>1</sup>, M Jiménez<sup>1</sup>, P Torné<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Cirugía General. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

La agricultura intensiva tiene una importante representación en el litoral almeriense y granadino por lo que el riesgo de exposición a pesticidas organoclorados disruptores endocrinos pudiera ser importante. Por este motivo, se ha investigado la exposición a 16 pesticidas organoclorados en 458 mujeres y se han analizado las características sociodemográficas y estilo de vida que pudieran condicionar la exposición. A cada una de las participantes se les tomó una muestra de tejido adiposo para su análisis químico y se les realizó una encuesta epidemiológica. Los resultados indican que se trata de mujeres de edad media 56 años, de bajo nivel escolar y que en un 50% han desarrollado trabajos agrícolas. La media del número de hijos es 4 y los han amamantado el 75.5% de la población estudiada. El índice de masa corporal (IMC) clasifica en sobrepeso a 3 de cada 4 mujeres. DDE está presente en el 97.4% de las muestras analizadas, seguido por endosulfán y sus metabolitos (69.9%) y por lindano y aldrín presentes en el 39.3% y 30.3%, respectivamente. IMC y edad son factores de riesgo para la presencia de DDE. Un bajo nivel escolar y el desarrollo de trabajos agrícolas también condicionan la exposición a este pesticida. Los niveles de endosulfán-I y endosulfán-sulfato son mayores entre las participantes de menor ruralidad y que no han desarrollado trabajos agrícolas, lo que orienta hacia una exposición alimentaria. La mayor lactancia se asocia con niveles superiores de lindano en tejido adiposo. Conclusión: La actividad profesional agrícola es un condicionante de la exposición a organoclorados históricos y la alimentación se relaciona con los de uso actual. Lactancia y embarazos no ha demostrado ser el mecanismo de depuración que se suponía.

*Financiación: FIS 00/0543 y 02/1314*

P14

## **PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL**

*A Granada<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, C López<sup>3</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, A Caño<sup>2</sup>, M Bernal<sup>2</sup>, F Olea<sup>4</sup>, N Olea<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Química-Física. <sup>4</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

El uso de algunos pesticidas organoclorados disruptores endocrinos está prohibido o restringido pero, a pesar de ello, son frecuentemente detectados en distintos medios biológicos. Los compuestos organoclorados se acumulan en el tejido adiposo materno y pueden atravesar la barrera placentaria accediendo al feto y al niño tras su nacimiento a través de la leche materna. Sólo estas vías de exposición placentaria y lactancia pueden explicar la exposición detectada en grasa de niños de corta edad. Esta situación es especialmente preocupante durante la gestación y la primera infancia, ya que la exposición podría estar relacionada con las malformaciones urogenitales (epispadias, hipospadias, criptorquidia...etc). Por esta razón el presente trabajo investiga los niveles de pesticidas organoclorados en muestras de suero de cordón umbilical de 200 varones nacidos en el Hospital Clínico de Granada. Tras la extracción y purificación de las muestras se lleva a cabo la cuantificación de un total de 18 moléculas organocloradas por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE). La confirmación de las moléculas analizadas se ha realizado mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM). Los resultados destacan que la totalidad de las muestras presentan residuos de al menos un pesticida. El pesticida organoclorado más frecuentemente detectado ha resultado ser la vinclozolina presente en el 87.5% de las muestras analizadas. El más abundante es el endosulfán-diol, con una concentración media hallada de 13.23 ng/ml suero. En ambos casos se trata de pesticidas de uso habitual. Entre los pesticidas de uso histórico destacan DDT y DDE presentes en el 81.5 y 81% de las muestras, respectivamente. Dado que algunos de estos compuestos tienen además de una conocida actividad estrogénica un efecto antiandrogénico probado en modelos animales (caso del DDE y la vinclozolina) la exposición infantil de los niños es de una significación particular.

*Financiación: 5º Programa Marco Unión Europea. Envir Reprod. Health.*

P15

**INFLUENCIA DE LA DIETA DE MUJERES EMBARAZADAS SOBRE EL CONTENIDO DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS Y ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (AGPIS) EN LA LECHE HUMANA**

*M Jiménez<sup>1</sup>, A Jerez<sup>2</sup>, JM<sup>a</sup> Díaz<sup>2</sup>, P Araque<sup>1</sup>, F Olea<sup>3</sup>, Campoy C<sup>2</sup>.*

<sup>1</sup>Laboratorio de Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Dpto. de Pediatría. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. Dpto. de Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. nolea@ugr.es

La dieta de la madre influye sobre la cantidad y calidad de la leche y ésta puede ser vehículo de los compuestos tóxicos ingeridos (Organoclorados, PCB, DDT). Con objeto de investigar la influencia de la dieta sobre la lactancia se ha estudiado la dieta materna y se han analizado el contenido de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL) consumidos y su presencia en leche humana, así como la presencia de pesticidas organoclorados. Para ello, se han reclutado 25 mujeres voluntarias sanas (Edad 17-35 años) procedentes de El Ejido (Hospital de Poniente, Almería) y Granada capital (Hospital Clínico San Cecilio) que amamantaban a sus hijos. La leche recolectada procede de tres períodos calostro, transición y madura. El análisis de organoclorados y de AGPIs se hace mediante C/ECD, GC/FID y GC/MS. Los cuestionarios de consumo de alimentos se analizaron mediante un programa informático que contiene tablas de composición de alimentos Wander y españolas. Los resultados mas interesantes son: En leche calostrual se ha encontrado una correlación positiva entre DHA/metoxicloro ( $p < 0.003$ ) y negativa entre dieldrín y el cociente (n-3/n-6) ( $p < 0.01$ ). En leche de transición se observan correlaciones positivas entre el AA/p,p' DDT y o,p' DDT, respectivamente ( $p < 0.01$ ). En leche madura se ha encontrado correlación positiva entre endosulfán lactona/ac.linoléico ( $p < 0.01$ ) y negativa entre endosulfán lactona/DHA ( $p = 0.037$ ) y ácido linoléico/p,p' DDD ( $p < 0.01$ ). No se ha encontrado relación entre los ácidos grasos de la dieta y AGPI en leche materna. En conclusión, la ingesta de grasa de las madres lactantes influye en la presencia de organoclorados en leche y parece existir una movilización de ácidos grasos de las reservas maternas para la formación de AGPI encontrados en la leche.

P16

## **ACTIVIDAD ESTROGÉNICA DEBIDA A DISRUPTORES ENDOCRINOS EN TEJIDO PLACENTARIO OBTENIDO EN EL HOSPITAL CLÍNICO DE GRANADA.**

***MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, JM Molina-Molina<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, J Carreño<sup>1</sup>, JM Fernández<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, N Olea<sup>1</sup>***

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Los contaminantes medioambientales con actividad hormonal estrogénica, bioacumulados en los tejidos de la madre, pueden depositarse en la placenta y acceder al embrión-feto en fases tempranas del desarrollo. Dos aproximaciones distintas pueden ayudar a caracterizar la exposición del niño: i) la cuantificación de algunos pocos compuestos químicos de interés seleccionados entre los candidatos por sospecha de exposición y ii) la utilización de marcadores de exposición y efecto que cuantifiquen la acción combinada de los compuestos químicos extraídos. Siguiendo esta aproximación metodológica, nuestro grupo desarrolló la carga estrogénica total efectiva (TEXB) entendida como la cuantificación de la estrogenicidad de un extracto tisular en términos de unidades equivalentes de estradiol (Eq/ por gramo de tejido). Objetivo de este estudio es determinar el efecto combinado de los xenoestrógenos extraídos, medido como TEXB de 200 placentas humanas colectadas en el momento del parto de mujeres residentes en Granada y Almería. El extracto de las muestras de placenta se purifica mediante HPLC obteniéndose dos fracciones: ? (0-11 minutos) donde eluyen los componentes mas lipofílicos y ? (13-25 minutos) donde eluyen componentes mas polares. Ambas fracciones se analizan en el test de estrogenicidad E-Screen. Un 72,81% de las muestras fueron positivas en la fracción ? , con un valor medio de 18,67 pM Eq E<sub>2</sub>/g placenta. La fracción ? fue positiva en el 86,15 % de los casos con un valor medio de 48,04 pM Eq E<sub>2</sub>/g placenta. Estos resultados muestran que los efectos adversos de la exposición inadvertida a xenoestrógenos en el periodo embrionario merecen profundizar en futuras investigaciones y establecer el seguimiento pormenorizado de los niños incluidos en este estudio.

*Financiación: 5º Programa Marco Unión Europea. Envir Reprod. Health.*

P17

## ¿SON LOS ANABOLIZANTES Y OTROS SUPLEMENTOS UN RIESGO POTENCIAL PARA LA SALUD DE LA POBLACIÓN DEPORTIVO INFANTIL Y JUVENIL?

*M Mariscal Arcas<sup>1</sup>, A Olivares Ortega<sup>1</sup>, C Carvajal Rodríguez<sup>1</sup>, M Martín Matilla<sup>1</sup>, A Rivas Velasco<sup>1</sup>, F Olea Serrano<sup>1</sup>.*

<sup>1</sup>Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. folea@ugr.es

R. Carson (1962) advirtió que productos químicos sintéticos se habían difundido por el planeta y denunció que muchos de ellos se acumulaban en organismos vivos y ejercían efectos hormonales indeseados. Condujo a definir los disruptores endocrinos, grupo muy amplio que comprende tanto productos sintéticos como naturales. Los anabolizantes son parte de este grupo cuyo uso está muy extendido entre deportistas para la mejora del rendimiento deportivo. El abuso es objeto de interés, a partir de estudios que mostraban su gran consumo con fines no médicos. Cualquier deportista no orientado adecuadamente, fundamentalmente en edades tempranas, puede estar en riesgo de utilizar estas sustancias, creyendo que aumentan el rendimiento deportivo. No nos referimos a deportistas de competición, sino a jóvenes adolescentes que practican deporte con mayor o menor rendimiento. Es importante educarlos para que no consuman productos ergogénicos *milagrosos*, desde anabolizantes, hasta suplementos de aminoácidos, vitaminas o bebidas para deportistas. (prioridad para la FAO/OMS). Este último grupo presenta confusión; existen las bebidas isotónicas para deportistas y las bebidas energizantes, que además de azúcares, saborizantes y vitaminas, incluyen estimulantes y bases xánticas enmascaradas como extractos de frutas. Se presentan resultados preliminares (n=50) de un estudio sobre un total de 290 niños esquiadores de Andalucía (6-16 años). Se ha diseñado una encuesta en la que se consigna hábitos de vida, deporte, antropometría. No se ha encontrado marcada esta tendencia. Un 14% toma suplementos vitamínicos y minerales; un 4% suplementos dietéticos. Una muestra tan pequeña analizada hasta el momento y la no valoración hasta ahora de qué tipo de suplementos toman, no nos permite concluir la importancia del consumo de estas sustancias, pero se ha puesto de manifiesto el desconocimiento del riesgo que supone el consumo de productos *milagro* para mejorar el rendimiento deportivo.

P18

## RESIDUO DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN TEJIDO PLACENTARIO DE HOSPITALES DE GRANADA Y ALMERÍA

*B Olmos<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, F. Cañabate<sup>2</sup>, F Olea<sup>3</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Servicio de Pediatría. Hospital Poniente. Almería. <sup>3</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

La exposición infantil a sustancias químicas con actividad hormonal, disruptores endocrinos, supone durante el periodo embrionario-fetal y la primera infancia un riesgo de especial significación debido al efecto sobre el desarrollo orgánico y la funcionalidad del sistema endocrino. Con objeto de investigar la exposición a pesticidas organoclorados (OCs) durante el embarazo, se realizó un estudio epidemiológico en una población de varones recién nacidos en hospitales de las provincias de Granada y Almería. El número de embarazadas reclutadas fue de 200 y sus edades estaban comprendidas entre los 17 y 43 años. Se cuantificaron 17 moléculas organocloradas, mediante cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE), una vez que se extrajeron y purificaron las muestras. La confirmación de las moléculas analizadas se realizó mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM). Entre los resultados obtenidos destaca que la totalidad de las muestras analizadas presentan residuos de al menos un pesticida. El pesticida organoclorado más frecuentemente detectado ha resultado ser el DDE, en el 86% de las muestras analizadas. El más abundante es el DDD, con una concentración media hallada de 33.91 ng/g de placenta. Ambos compuestos son metabolitos de uno de los pesticidas más conocidos debido a su uso histórico, el DDT, presente en un número significativamente menor de muestras analizadas (45%). Nuestros resultados sugieren que la placenta es una vía importante de exposición infantil a pesticidas organoclorados, que son bioacumulados en los tejidos de la madre y son movilizados durante el embarazo. Las implicaciones de esta observación en poblaciones laboralmente expuestas a pesticidas de uso habitual son, cuanto menos, inquietantes y obligan al estudio pormenorizado de este fenómeno, sus consecuencias y a la actuación preventiva.

*Financiación: 5º Programa Marco Unión Europea. Envir Reprod. Health.*

P19

## EXPOSICIÓN HUMANA A ENDOSULFÁN Y SUS METABOLITOS EN EL SURESTE PENINSULAR

*A Rivas<sup>1</sup>, I Cerrillo<sup>1</sup>, M Fernández<sup>1</sup>, MI González<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Muchos de los pesticidas organoclorados persisten en el medio ambiente y se bioacumulan y biomagnifican en la cadena alimentaria. A pesar de que los países industrializados han prohibido o restringido su uso, dichos compuestos continúan fabricándose para exportación o como materia prima para la fabricación de otros pesticidas (p.e DDT/Dicofol). Otros pesticidas organoclorados se siguen usando hoy día en países industrializados, como es el caso del endosulfán. En la UE, España es el mayor consumidor de endosulfán, toda vez que los países de mayor consumo histórico han reducido su uso de forma significativa (Francia 382 Tm en 1996 a 28 Tm en 1999). En los seres superiores el metabolismo del endosulfán supone la transformación hacia formas más hidrosolubles, pero debido a su lipofilidad, el endosulfán se deposita en los tejidos y medios biológicos. El consumo de cantidades importantes de endosulfán en el medio agrícola del sureste peninsular ha determinado que su presencia medio ambiental sea frecuente. El objetivo de este estudio fue el determinar los niveles de endosulfán- $\alpha$ , endosulfán- $\beta$  y metabolitos endosulfán-eter, endosulfán-lactona, endosulfán-diol y endosulfán-sulfato en distintos medios biológicos (tejido adiposo, suero, placenta, suero de cordón umbilical y leche materna) de mujeres residentes en áreas de agricultura intensiva (Granada y Almería). Los resultados indican que la mujer en edad reproductiva está expuesta a endosulfán y que la movilización de estos compuestos durante el embarazo y la lactancia es un problema de salud pública que debe ser abordado con urgencia.

*Financiación: FIS 00/0543 y 02/1314*

P20

## **EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS EN TEJIDO ADIPOSO Y SUERO, ASI COMO CARGA ESTROGÉNICA EN PACIENTES AFECTAS DE CÁNCER DE MAMA.**

*P Araque<sup>1</sup>, JM Molina<sup>1</sup>, I Cerrillo<sup>1</sup>, B Olmos<sup>1</sup>, J Carreño<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>, V Pedraza<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Debido a la gran influencia de los estrógenos en el desarrollo del cáncer de mama se sugiere como posible hipótesis causal, de la iniciación y promoción, la exposición a compuestos organoclorados(OC). Por su lipoflidad y metabolización se acumulan en grasa a lo largo de los años. Poco se conoce sobre las variaciones temporales de estos compuestos. El objetivo de este estudio es medir de forma continuada y repetida en el tiempo, durante el curso del tratamiento, los niveles de pesticidas y la evolución de la carga estrogénica estimada en pacientes afectas de cáncer de mama. Se han seleccionado 35 pacientes afectas de cáncer de mama con media de edad de 60 años, intervenidas quirúrgicamente en el Hospital Clínico San Cecilio. Un cuestionario estructurado recogió información de hábitos de vida. Muestras de tejido adiposo y sangre se tomaron en el momento de la intervención y a los tres meses de la misma, y fueron analizadas por técnicas cromatográficas. En el proceso separativo se obtuvieron dos fracciones:  $\alpha$ (xenoestrógenos) y  $\beta$ (endoestrógenos). Se determinó la concentración de 18OC. El ensayo E-Screen se utilizó para medir la actividad estrogénica de las dos fracciones obtenidas. En tejido adiposo, tanto en el momento de la intervención como en la primera revisión, el pesticida hallado en mayor cantidad es el p,p'-DDE, con una concentración media de 427,97 ng/g lípido y 338,65ng/g lípido respectivamente mientras que el detectado en menor concentración en la intervención ha sido el aldrín con concentración media de 6,66 ng/g lípido, siendo en la primera revisión el endosulfán-II con concentración media de 2,16 ng/g lípido. En suero la vinclozolina fue el pesticida más abundante con una concentración media de 2011,44 pg/ml en la intervención y 1782,25 pg/ml en la primera revisión. El endosulfán-eter fue el detectado en menor concentración (212,29 pg/ml en la intervención y 226,43 pg/ml en la primera revisión). En el ensayo E-Screen, el 60% de las muestras de tejido adiposo procedentes de la intervención presentaron positividad en la fracción  $\alpha$  con valor medio de 168,85 pM Eeq/g lípido, mientras que un 94,3% de las fracciones  $\beta$  fueron positivas con un valor medio de 73,94 pM Eeq/g lípido. El 77,1% y el 97,1% de las muestras de tejido adiposo de la primera revisión fueron positivas para las fracciones  $\alpha$  y  $\beta$ , respectivamente, con unos valores medios de 10,96 pM Eeq/g lípido y 136,18 pM Eeq/g lípido.

P21

## **PESTICIDAS ORGANOCLORADOS DISRUPTORES ENDOCRINOS EN PLACENTAS DE GRANADA Y ALMERÍA**

*B Olmos<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

La exposición infantil a sustancias químicas con actividad hormonal representa durante el periodo embrionario-fetal y la lactancia una fase crítica por su efecto sobre el desarrollo orgánico y la funcionalidad del sistema endocrino. Con objeto de investigar el efecto de la exposición a pesticidas organoclorados (OCs) durante el embarazo, se realizó un estudio en una población de varones recién nacidos en las provincias de Granada y Almería. El número de embarazadas reclutadas fue de 200 y sus edades estaban comprendidas entre los 17 y 43 años.

La cuantificación de un total de 17 moléculas organocloradas se llevó a cabo por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE), tras la extracción y purificación de las muestras. La confirmación de las moléculas analizadas se ha realizado mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM). Los resultados destacan que la totalidad de las muestras presentan residuos de al menos un pesticida. El pesticida organoclorado más frecuentemente detectado ha resultado ser el DDE en el 86% de las muestras analizadas. El más abundante es el DDD, con una concentración media hallada de 33.91 ng/g de placenta. Ambos compuestos son metabolitos de uno de los pesticidas más conocidos debido a su uso histórico, el DDT, presente en el 45% de las muestras analizadas. Nuestros resultados confirman que la placenta es una vía de exposición infantil a pesticidas organoclorados.

P22

## PRESENCIA DE SUSTANCIAS CON EFECTO ESTROGÉNICO EN PLACENTAS DANESAS

*J Carreño<sup>1</sup>, JM Molina<sup>1</sup>, MJ López<sup>1</sup>, A Granada<sup>1</sup>, MI Gonzalez<sup>1</sup>, M Castillo<sup>1</sup>, N Olea<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

**Introducción:** Se ha acuñado el término de disruptores endocrinos (DE) para definir el conjunto heterogéneo de compuestos químicos que interaccionan con el sistema hormonal. Con objeto de demostrar la exposición humana a disruptores endocrinos se ha medido la actividad estrogénica en placentas procedentes de Dinamarca. Este trabajo se incluye dentro de un proyecto europeo que estudia la influencia de factores medioambientales en la salud reproductiva masculina. **Material y Métodos:** De las muestras de placentas homogenizadas (1´6 g) se extraen los posibles contaminantes empleando una columna de alumina y n-hexano. Los extractos se purifican mediante HPLC Se obtienen s dos fracciones, en la fracción ? (0-11 minutos) eluyen los componentes mas lipofílicos y en la fracción ? (13-25 minutos) eluyen componentes mas polares( polifenoles y hormonas). Ambas fracciones se analizan en el test de estrogenicidad E-Screen. **Resultados:** Un 94 % de las muestras fueron positivas en la fracción ? , con un valor medio de 11´29 pM Eq E2/g . La fracción ? un 96 % de las muestras fueron positivas en el E-Screen con un valor medio de 67´19 pM Eq E2/g. **Conclusión:** El alto porcentaje de positividad en el test E-Screen indica la presencia de compuestos con actividad hormonal en placentas humanas, es conveniente proseguir la investigación para establecer las implicaciones de esta contaminación.

P23

## DESARROLLO DE UN MÉTODO PARA EL ANÁLISIS DE POLIFENOLES DISRUPTORES ENDOCRINOS Y FITOESTRÓGENOS EN MUESTRAS BIOLÓGICA HUMANAS

*MI González<sup>1</sup>, A Rivas<sup>1</sup>, J Carreño<sup>1</sup>, M Jiménez<sup>1</sup>, M Mariscal<sup>2</sup>, N Olea<sup>1</sup>, F Olea<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Lab Investigaciones Médicas. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. <sup>2</sup>Dpto. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Grupo MADE. [nolea@ugr.es](mailto:nolea@ugr.es)

Los disruptores endocrinos (DE) son sustancias químicas, exógenas al organismo animal o humano, que tienen actividad hormonal/antihormonal y que actuando como agonistas o antagonistas pueden alterar la homeostasis del sistema endocrino. Entre los compuestos químicos DE de origen sintético se encuentran los bisfenoles que incluyen monómeros de plásticos y polímeros sintéticos, de uso generalizado en el sector industrial. Un grupo de DE con cierta similitud estructural a los bisfenoles y con un comportamiento analítico parecido, pero de origen natural, son los fitoestrógenos presentes en algunas plantas. Con objeto de desarrollar una metodología analítica en la que se puedan investigar ambos tipos de compuestos con un protocolo similar se ha puesto a punto una técnica cromatográfica basada en HPLC. Se han seguido las condiciones de trabajo que se describen a continuación: fases móviles acetonitrilo (A) y acetonitrilo-agua (B); gradiente (min. 0, 100 % A; min. 15, 100 % B, min. 17, 100 % A); columna C-18 (150 x 4.6 mm); flujo 1 mL/min; detectores de fluorescencia y UV/visible. Para la realización de las curvas de calibrado se inyectaron 20  $\mu$ l de soluciones estándar de bisfenol A, bisfenol A-dimetacrilato, daidzeína, genisteína y resveratrol. Las curvas de calibrado fueron lineales ( $r=0.990$ ) en el rango de  $10^{-8}$  M -  $10^{-5}$  M para los compuestos fluorescentes y de  $10^{-5}$  M -  $10^{-3}$  M para los detectados en UV/visible. Los límites de detección fueron de  $10^{-9}$  M para los compuestos fluorescentes y de  $10^{-6}$  M -  $10^{-5}$  M para los detectados en UV/Visible. El método propuesto permite una determinación precisa de bisfenoles y fitoestrógenos mediante cromatografía líquida de alta resolución y puede ser aplicado de forma rutinaria en estudios de exposición humana a estos compuestos.

*Financiación: 5º Programa Marco Unión Europea EDEN*



# NOTAS

---

# NOTAS

---