

Xenobióticos estrogénicos: un objetivo para la toxicología funcional*

Estrogenic Xenobiotics: A goal for the Functional Toxicology

OLEA, M. F.

Departamento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
18071 Granada. España

RESUMEN

Se comenta una nueva forma de aproximación al estudio de moléculas tales como los pesticidas organoclorados, los alquil fenoles o bien bisfenoles, que presentan estructuras químicas diversas y aplicaciones dispares, sin embargo su comportamiento biológico es similar. Mimetizan la acción del estradiol 17- β tanto "in vitro" como "in vivo". Por estos motivos se propone un nuevo planteamiento en el estudio de estas moléculas, es lo que se está denominando Toxicología funcional. Se considera de interés ya que en el momento actual la contaminación medioambiental y alimentaria por estos productos es altamente frecuente.

Palabras clave: Pesticidas organoclorados. Bisfenol-A. Contaminantes químicos.

ABSTRACT

Numerous compounds in dialy industrial, agricultural or domestic use have estrogenic effects. Alkylphenols, and some organochlorine pesticides have diverse chemical structures and mimics estradiol-17 β in animals and in humans. For motts chemicals pollutants we do not know whether they are estrogenic or not, what their effects are singly or together, or even the degree of exposure. We propose a new toxicologic approach to the study of these chemicals by which besides molecular structure and physicochemical properties analysis they should be tested to identify functional activity in "in culture" assays as the E-SCREEN for estrogenicity.

Key words: Organochlorine pesticides. Bisphenol-A. Chemicals pollutants.

Recibido: 8-1-1996.

Aceptado: 24-1-1996.

BIBLID [0004-2927(1996) 37:2; 183-196]

* Conferencia pronunciada en los Actos de la Patrona de la Facultad de Farmacia de Granada el 8 de diciembre de 1995.

Al comienzo de los años 60 apareció un libro escrito por Raquel Carson (1), bióloga marina, que trabajaba en el Servicio de Pesca y Medio Ambiente de USA, llamando la atención sobre los problemas que, ya entonces, estaban ocasionando la utilización y vertido sin control al medio ambiente, de sustancias persistentes y tóxicas. Inicia la obra imaginando lo que llama "una fábula del mañana". Se sitúa en una pequeña ciudad del corazón de Estados Unidos donde parece que la vida está en armonía con su alrededor, la ciudad está rodeada de fértiles granjas, con campos de cereales y huertas con frutales y hortalizas. Hay verdes prados y en otoño los árboles van cambiando de color hacia los tonos ocre. El campo que rodea la ciudad es famoso por la variedad de pájaros que allí viven. Es frecuente ir de pesca a los ríos que atraviesan la campiña. Todo esto venía ocurriendo desde que el primer colono se estableció en la región.

De repente empezaron a cambiar las cosas, era como si un hechizo se hubiese asentado en la región. Enfermedades misteriosas aparecieron en tropel en las granjas de pollos y el ganado enfermó y murió. En cualquier sitio aparecía la sombra de la muerte. Los médicos empezaron a observar cada día nuevas y desconocidas enfermedades. Había muertes repentinas, inexplicables, no solo en los adultos sino en los niños.

Había extrañas situaciones. Los pájaros ¿donde habían ido? La gente hablaba de esto preocupada. Los pocos pájaros que quedaban estaban moribundos y no podían volar. Era una primavera sin ruidos. Solo el silencio se extendía por los campos, los bosques y los pantanos.

En las granjas las gallinas incubaban pero los pollos no salían del cascaron. Los granjeros no podían criar un solo cerdo, sobrevivían solo unos días. Los manzanos comenzaron a florecer, pero no había abejas para continuar con la polinización.

No había brujerías, ninguna acción de enemigos había silenciado el renacimiento de la vida. Lo había hecho sencillamente la propia gente que aquí vivía.

Esta ciudad no existe en la actualidad, pero puede suceder en cualquier parte del mundo, en cualquier momento. Por separado, cada uno de estos desastres están ocurriendo e incluso en algunas comunidades se dan en conjunto algunos de ellos. ¿qué es lo que silenció las voces de la primavera en algunas regiones de America? A lo largo del libro, Raquel Carson, trata de explicarlo.

La historia de la vida en la tierra es la interacción entre los seres vivos y el medio ambiente. Posiblemente solo en la actual centuria una de las especies, EL HOMBRE, ha adquirido poder suficiente para alterar la naturaleza del mundo que lo rodea. En los últimos años este poder se ha incrementado, el más alarmante de los asaltos ha sido la contaminación del medio ambiente con los vertidos a los ríos, mares, aire y tierra, de materiales peligrosos y letales. Schweitzer ha dicho "los hombres pueden ser fácilmente reconocidos como los diablos de su propia creación".

Se puede decir que se han precisado millones de años para producir la vida que ahora habita la tierra. Se ha precisado mucho tiempo para alcanzar un equilibrio entre los distintos sistemas para permitir la vida. La rapidez de los cambios y la velocidad con que las nuevas situaciones se crean, seguidas del ímpetu y descuido del hombre no dejan en paz a la naturaleza.

Se calcula que son unos 500 nuevos productos a los que el ser humano y los animales se tiene que adaptar cada año. Muchos de estos productos ímpetu totalmente al límite de la experiencia biológica.

Desde mitad de los años cuarenta más de 600 productos químicos básicos se han creado para matar insectos, malas hierbas, roedores y otros muchos organismos "perjudiciales" en agricultura. Estos productos ímpetu en el mercado con varios cientos de diferentes nombres comerciales.

La utilización de estos productos parece haber alcanzado una espiral indefinida. Desde que apareció el DDT, un proceso "in crescendo" ha surgido con la búsqueda y utilización de productos cada vez más potentes, sencillamente, porque en la evolución, los insectos se van adaptando a los nuevos productos haciéndose resistentes.

Un pequeño porcentaje de los más de medio millón de especies de insectos son los que entran en conflicto con la vida humana por dos vías primordiales el aporte de alimentos y como vectores de enfermedades. Los insectos comienzan a ser un problema para el hombre cuando vive en comunidades en condiciones sanitarias insalubres, en desastres naturales, en períodos de guerra o en situaciones de extremada pobreza. En estas condiciones el control se hace imprescindible, sin olvidar que los métodos de empleo masivo de productos químicos debe limitarse a casos concretos y que determinados tratamientos pueden empeorar las condiciones, al intentar controlarlas, si no se hace con conocimiento autentico de la situación. Es preciso un conocimiento básico de la población animal y su relación con el medio ambiente lo que procurará un balance y no provocará una rotura explosiva con la aparición de nuevas invasiones.

Si bien, la fábula se escribió en los años 60 no parece haber grandes cambios actualmente. Prueba de ello es el informe del Comité de Expertos reunidos en Wingspread, Wisconsin, EE.UU., en julio de 1991 (2). Comienza con las siguientes palabras:

"Muchos compuestos químicos de diferente origen y naturaleza que son introducidos en el medioambiente por la actividad industrial del hombre son capaces de modificar el equilibrio del sistema endocrino en animales salvajes y ganadería e incluso en el propio hombre".

Los objetivos y conclusiones de la reunión reflejan con precisión la magnitud del problema, que se apoya en estos tres hechos:

1) Un gran numero de compuestos químicos contaminantes del medioambiente en que la vida animal y humana se desarrollan, alteran la función endocrina. Se

incluyen en esta serie compuestos tales como: DDT y sus derivados, dicofol, hexaclorobenceno, keltano, kepona, lindano y otros hexaclorohexanos, metoxi-cloro, octacloroestireno, ciertos derivados de PCB, dioxinas, furanos, cadmio, plomo, mercurio, tributilin, alquilfenoles como detergentes no biodegradables y antioxidantes, productos derivados de la soja y algunos alimentos preparados para animales de laboratorio y animales domésticos.

2) En estos momentos existen pruebas concretas de que ciertas poblaciones de animales ya están afectados por la contaminación química medioambiental de carácter hormonal. Así, se sabe que disfunciones tiroideas, disminución de la fertilidad, pérdida en la eficacia de apareamiento, anomalías del comportamiento, alteraciones metabólicas evidentes desde el nacimiento, desmasculinización y feminización y alteraciones del sistema inmune en aves, peces, tortugas y mamíferos están causalmente ligadas al acúmulo de ciertos compuestos químicos en los tejidos de los sujetos expuestos.

3) Por último, el informe advierte que: a) los efectos derivados son función de especie animal y de compuesto químico; b) las consecuencias de la exposición crónica a esta clase de contaminantes serán patentes en la descendencia de los sujetos expuestos; c) es importante el tiempo de exposición y d) las consecuencias se manifestaran con mayor frecuencia en la madurez.

En definitiva, se advierte que se trata de una teratología funcional más que de una teratología orgánica, indicándose la inutilidad de los tests actuales de predicción del riesgo para la salud para sustancias químicas que van dirigidos a detectar tan solo los efectos teratológicos orgánicos o los carcinogénicos.

Algunos resultados, de la actividad biológica de xenobióticos, favorecen la necesidad de otras explicaciones dando lugar a lo que se podría considerar una nueva línea en toxicología usando metodologías ya disponibles.

Un gran número de señales inter e intracelulares de diferenciación celular, proliferación y función se ocasiona por la interacción de pequeñas moléculas con sus receptores. Receptores que reconocen hormonas esteroideas, tiroideas, retinoides y algunas vitaminas. Estas sustancias son factores de transcripción nuclear que implican regulación de un gen. Esta clase de genes también reconocen sustancias químicas extrañas. Así algunos xenobióticos pueden en parte ejercer su efecto a través de una interacción con receptores nucleares y la activación de los genes que los regulan.

En el caso de las sustancias químicas que interaccionan con el receptor de estrógenos su actividad está regida más por su función (estrogenicidad) que por su estructura química. Así entender la acción del producto químico mediatizada por el receptor puede ayudar a definir una función de potencial importancia toxicológica.

McLachlan (3) sugiere una estrategia de investigación referida a la **toxicología funcional** en la cual los productos químicos son definidos más por su función

que por su estructura química. Como parte de esta estrategia líneas celulares, incluyendo células humanas, pueden ser transfectadas con secuencias de DNA artificial conteniendo un sitio aceptor para el complejo receptor-hormona y un gen "reporter" para el receptor. Esto es sencillo y relativamente rápido y un camino directo no solo para la unión de los ligandos químicos al receptor sino para la respuesta al elemento y la activación del gen.

Si se establece el panel de células conteniendo receptores se pueden analizar rápidamente productos químicos de biología o toxicología desconocida y determinar su función biológica. Un test relacionado con la funcionalidad es el test E-SCREEN, (4).

Análisis de funcionalidad se pueden realizar favorablemente disponiendo de paneles que incluyan receptores de estrógenos, progesterona, andrógenos, glucocorticoides, retinoides, hormonas tiroideas, dioxinas etc. Al final se puede determinar si un producto químico presenta una función biológica cuantificable. El hecho es que para un grupo de sustancias químicas se podrá asignar además de su Peso molecular, Punto de fusión, solubilidad etc. su descripción funcional. Esta información puede tener importancia en la salud pública.

A pesar de toda esta estrategia no es una vira que proporcione información completa de un producto químico o que reemplace los ensayos en animales o estudios epidemiológicos de salud pública. De este modo se puede proporcionar una información importante para una serie de problemas toxicológicos en un tiempo relativamente corto y un coste relativamente bajo. Por ejemplo, con esta estrategia se puede determinar qué químicos del medioambiente actúan como DES y cual puede ser su potencia relativa a partir de un ensayo "in vitro" de activación de genes. Con posterioridad se podrá desarrollar un plan para realizar estudios adicionales orientados en determinada dirección o bien estudios de salud pública, para estos productos químicos, basados en su toxicología funcional.

Destacan entre las disfunciones hormonales atribuidas a la contaminación ambiental aquellas ligadas a la actividad sexual o lo que es lo mismo el desequilibrio en el balance de estrógenos, andrógenos y progestágenos, conocidos como esteroides sexuales.

Los estrógenos naturales o estrógenos "endógenos" constituyen una clase de hormonas esteroideas cuya propiedad común es regular el crecimiento, desarrollo y diferenciación de los órganos sexuales secundarios en la hembra. Los estrógenos naturales conocidos son estradiol-17 β (E_2), estrona (E_1) y estriol (E_3).

Pero en el momento actual el término estrógeno se debe adoptar de una forma operacional, esto es, se aplicará a cualquier sustancia química, esteroidea o no esteroidea, capaz de inducir el "estro", independientemente de su estructura química o mecanismo de acción.

En principio, los estrógenos a los que un individuo de nuestra colectividad está expuesto, sin considerar la utilización farmacológica de sustancias hormonales, pueden tener diferente origen:

- 1) estrógenos naturales contenidos en carnes y otros derivados animales,
- 2) estrógenos sintéticos introducidos en el hombre por las mismas vías que los naturales, y utilizados como finalizadores en ganadería,
- 3) estrógenos naturales de origen no animal, como los fitoestrógenos y
- 4) sustancias químicas de muy diverso origen y estructura contaminantes del medioambiente y los alimentos

Desde el punto de vista químico es difícil establecer similitud estructural o bien en cuanto a la utilización de los productos. Una simple revisión de las sustancias que se recogen en la tabla 1 avala este hecho. (5)

Tabla 1

HERBICIDAS	INSECTICIDAS	NEMATICIDAS
2,4 D	9-MCH	Aldicarb
2,4,5 T	carbaril	DBCP
Alaclor	clordano	
Amitrole	Dicofol	
Atrazina	Dieldrin	OTROS
Metribucin	DDT y metabollitos	Cadmio
Nitrofen	Endosulfan	Mercurio
Trifuralin	Heptacloro	Plomo
	Lindano	Dioxinas
	Metomilo	PBBs
	Metoxicloro	PCBs
FUNGICIDAS	Mirex	Pentaclorofenol
Benomilo	Oxiclordano	Alquilfenoles
Manococeb	Paration	Ftalatos
Maneb	Piretroides	Estirenos
Metiram-complex	Toxafeno	BFA y derivados
Tributilin	Transnonacloro	DES
Zineb		
Ziran		
	FITOESTROGENOS	
	Zearalenol	
	Cumestrol	

La actividad estrogénica de algunos pesticidas organoclorados es conocida desde hace años cuando se describió el efecto del DDT sobre el metabolismo de los esteroides (6) y se asoció posteriormente a la exposición a tales compuestos con patología de carácter endocrino en animales y en el hombre (7, 8, 9). Otros pesticidas organoclorados también han sido relacionados con alteraciones patológicas en sistemas hormonales, por ejemplo, la exposición profesional a clordecona —kepona— se ha asociado con oligospermia y esterilidad en trabajadores expuestos al pesticida (10). Con posterioridad los datos de experimentación animal habían demostrado que tal pesticida producía un estado de “estrus

permanente" en ratones hembras, supresión de la espermatogénesis en ardillas e hipertrofia de los oviductos en la ardilla hembra (11), datos que fueron interpretados como indicativos de la actividad estrogénica del pesticida.

La clordecona compite con el estradiol para unirse al receptor estrogénico y actúa en modelos animales como un verdadero agonista al provocar el crecimiento uterino en animales ovariectomizados expuestos a tratamiento prolongado con el pesticida. Es interesante resaltar la observación de este efecto hormonal prolongado en los modelos animales que se ha relacionado con una larga vida biológica del complejo pesticida/receptor estrogénico. No obstante esta observación es también compatible con el acumulo positivo del pesticida en tejido adiposo, el cual actuaría como reservorio de la clordecona que ejercería su efecto de forma gradual al liberarse lentamente al torrente sanguíneo y alcanzar los órganos diana de su acción.

Respecto al endosulfan recientemente se ha probado su efecto estrogénico en el ensayo E-SCREEN (12, 13). Informes anteriores (14) lo relacionaban con atrofia testicular y con el descenso de gonadotrofinas y testosterona en plasma de ratas macho alimentadas con el pesticida (15) y por tanto son orientativos de su interferencia en la función endocrina. Dosis orales de 10 mg/kg/día, durante 15 días fueron suficientes para provocar la degradación de los tubulos seminíferos y disminuir el peso de los testículos de las ratas macho.

Recientemente se han publicado resultados (16) sobre la exposición dérmica y respiratoria a endosulfan en trabajadores agrícolas profesionalmente expuestos. Las cifras obtenidas en sujetos que trabajan como fumigadores alcanzan valores teóricos de exposición dérmica total de casi 60 mg/hora de trabajo. Estas cifras resultan de la extrapolación a la superficie corporal de los datos obtenidos con parches situados en zonas prefijadas de la anatomía humana. La exposición respiratoria se estima en un 1% de la dérmica, pero se ve favorecida por el trabajo en invernaderos. Estos datos no dejan de ser inquietantes ya que las cifras de impregnación en profesionales expuestos superan en mucho los valores que nuestro grupo está encontrando con actividad hormonal estrogénica en nuestro ensayo (13). El endosulfan se comporta como estradiol a concentraciones micromolares y por tanto los niveles de exposición comentados pueden dar lugar a concentraciones circulantes del pesticida con actividad hormonal.

El endosulfan es eliminado por el organismo aunque un 20% del producto es retenido en el tejido adiposo, debido a su carácter lipofílico. De un 10 a 25% de las muestras de grasa analizadas por CGL-DCE (17) en individuos de la región de Murcia contenían endosulfan. La concentración media se sitúa en 7.29 mg/ Kg de grasa. Es interesante que estos mismos niveles se encuentran en grasa de niños presumiblemente no expuestos al pesticida.

Es difícil valorar el significado biológico de tales hallazgos. No obstante se deberían considerar dos hechos 1) el carácter estrogénico del endosulfan puesto de manifiesto en nuestro grupo de trabajo y 2) la sospecha de la exposición

intrauterina o perinatal, ligada posiblemente a la lactancia en niños de corta edad.

El endosulfan se elimina fácilmente en la leche y se ha demostrado su presencia en forma de sulfato en ratas tratadas con el pesticida (18). En USA (19), en muestras de leche humana se ha demostrado la presencia creciente de dieldrín, trazas de aldrín y BHC y una caída en los niveles de hexaclorobenceno y DDT debido a su menor uso. Igualmente se ha comprobado la presencia de PCBs y p-p'DDE en leche de madres lactantes noruegas.(20)

Esta exposición de los niños va ligada a otras exposiciones a pesticidas con actividad estrogénica y a la ingesta de alimentos contaminados con residuos de este y otros pesticidas. A este respecto la estimación de la **carga estrogénica** como expresión cuantitativa de la actividad estrogénica neta de una muestra biológica podría ser útil en la apreciación del riesgo para la salud.

OTROS ESTRÓGENOS

Además de los pesticidas organoclorados, ya mencionados, existen otras moléculas con capacidad para mimetizar la acción biológica del estradiol. Se pueden citar en el momento actual:

1.—Los alquil fenoles se utilizan ampliamente como surfactantes y aditivos de materiales plásticos.

Un componente clásico de los detergentes son los tensioactivos, responsables de la dispersión de la materia grasa. Entre los no iónicos se incluyen: alcoholetoxilatos, ésteres de ácidos grasos y de poliglicoles, alquilfenoles polietoxilatos etc. Datos sobre su biodegradabilidad se han publicado en el año 1988 por la industria alemana.

En cuanto a los alquil fenoles etoxilatos, con una producción anual de 10000 Tm en Alemania (21), en su biodegradación desaparece la parte etoxilato, mientras que el radical fenol da origen a residuos más tóxicos y no biodegradables. La concentración media de los lodos de estaciones depuradoras puede elevarse hasta 1g/Kg de peso seco. Los estudios de ecotoxicidad sobre los microorganismos y organismos del suelo no ímpetu disponibles. La legislación europea se atiene a la biodegradabilidad del 80% para tensioactivos no iónicos. Ningún país ha establecido, hasta el momento, límites respecto al producto completo solo respecto a su degradación. Pero ¿qué ocurre con el alquil fenol?. La flora constituida por las algas y las faunas de invertebrados han tenido que adaptarse para recibir toneladas de detergentes de todas clases sin estar preparados para esa función.

En la actualidad se sabe que los alquil fenoles desde C-4 a C-12 presentan efecto estrogénico. Este hecho se describió (22) a partir de la identificación del

nonil fenol como componente de los tubos plásticos utilizados en laboratorio para contener muestras biológicas. Este producto se reveló como inductor de proliferación celular de líneas estrógeno dependientes (MCF-7) y además manifestó efecto mitótico en útero de ratas. De otra parte, grupos de investigación ingleses (23) han demostrado la capacidad de estos derivados para estimular la expresión génica de vitelogenina de los hepatocitos de truchas y ratas. El más potente de estos productos manifestó un efecto similar al 17- β -estradiol, cuando se encontraba a concentración 1000 veces superior a la hormona.

Los alquilfenoles son señalados como contaminantes habituales y en concentraciones elevadas y persistentes en el agua de ríos como el Llobregat, Tamesis, Rin etc.

2.—Bisfenol A y sus derivados

En 1936 Dodds demostró que derivados dihidroxi fenil metanos administrados a ratas ovariectomizadas ocasionaban cornificación vaginal.(24)

Es interesante comentar que los trabajos sobre metabolismo realizados con BADGE (derivado de Bisfenol A) datan de 1981 (25) en ellos estudian la degradación del BADGE administrado a ratas, pero respecto al BFA aun perdura una gran interrogante, al no quedar aclarado el proceso de degradación y excreción de esta molécula, procedente de la hidrólisis del BADGE.

En febrero de 1995 se ha realizado un documento de trabajo para el Comité de Salud de Holanda (26) en el que se recopilan resultados de diferentes grupos de investigación y en referencia al Bisfenol A y BADGE se recogen datos de DL50, calculados por diversos grupos de investigación. La conclusión es: Bisfenol A según clasificación de CE 1993 es tóxico cuando se inhala en forma de partículas o aerosoles. El BADGE no puede ser clasificado debido a la falta de datos.

Se van relatando diversos efectos de acuerdo con los trabajos de varios investigadores. 1) No aparecen mutaciones en bacterias y no se inducen aberraciones en cromosomas. 2) El BADGE es mutagénico en algunos sistemas bacterianos.

En referencia a ensayos sobre reproducción:

La administración en dosis de 85 y 125 mg/Kg Muestra una reducción de fetos vivos. La toxicidad fetal fue estadísticamente significativa y se relacionó con una disminución del peso del feto. Además en la cría aparecen defectos en la osificación, ventrículos cerebrales agrandados o bien hidrocefalia. De acuerdo con este trabajo puede deberse a un efecto teratogénico del BFA pero la evaluación requiere más ensayos. Sin embargo, continua el informe, en vista de lo muy tóxico y las irrelevantes rutas referentes a circunstancias ocupacionales de exposición no se recomiendan estudios posteriores.(27) ¿Por qué?

Otros estudios (28) en los que se administra entre 0 y 1250 mg/Kg/día de Bisfenol A disuelto en aceite de maíz a ratones en períodos de gestación comprendidos entre los días 6 y 15 muestran síntomas como:

Espalda arqueada, letargia, piloerección, alopecia, pérdida de peso, hemorragias vaginales, respiración fatigosa etc.

Se observa una tendencia hacia la reducción de la gravidez del peso uterino con el aumento de las dosis de BFA. Se observa una disminución dosis dependiente del peso medio de los fetos. Al final la conclusión fué que el Bisfenol A "no está asociado con ninguna malformación particular o grupo de malformaciones a dosis en las cuales se aumenta el peso relativo del hígado.

Tras administración oral de varias dosis de Bisfenol A se observa (29) que el número de camadas por pareja disminuyó significativamente y en estos grupos además el número de crías vivas disminuyó frente a los controles.

En la generación F-0 El hígado y los riñones de los ratones, tanto machos como hembras, tratados con 1% de Bisfenol A manifestaban lesiones: Hepatomegalía, necrosis multifocal y hepatocitos gigantes multinucleados. También se describen alteraciones renales.

Los machos tratados manifestaban disminución de peso de las vesículas seminales y reducción de la motilidad del esperma. Pero no evidencias de lesiones en el tejido del sistema reproductor.

En la generación F-1: 20 parejas reciben dosis desde 0, 0.25 y 0.50 % y 11 reciben 1%. Tras sacrificio manifestaban elevadas lesiones hepáticas y renales. Los machos reducción significativa del peso de los órganos reproductores, aunque no alteración histopatológica o lesiones en otros tejidos. También aparece disminución de la movilidad del esperma frente a los controles. Las conclusiones de los autores son que estos problemas se deben a un efecto tóxico generalizado.

Los ensayos a largo termino del Bisfenol A han demostrado que no es carcinogénico. Dicen no encontrar efectos sobre la reproducción. Solo como consecuencia de la pérdida de peso y a los efectos sobre riñón e hígado se tratan de explicar los demás efectos descritos.

En el año 1993 el grupo de Feldman (30) presentó una curiosa comunicación en un Congreso sobre estrogenicidad en Washinton. Durante varios años su grupo venia trabajando con levaduras y encontraban la presencia de una proteína ligante de estrógenos por lo cual postularon la presencia de un primitivo receptor hormonal en las levaduras (*S. cerevisiae*). Tras estudios para aislar la sustancia que competía con el estradiol llegan a la conclusión que el producto es el Bisfenol A, liberado por los frascos de policarbonato que se utilizaban para esterilizar el medio de cultivo de las levaduras. Una vez aislado el Bisfenol A determinan su actividad estrogénica con diversos ensayos. Concluyen que sustancias no esteroideas en el medioambiente pueden ser potentes estrógenos, la practica de autoclavado del material de laboratorio puede incluir en los medios

sustancias contaminantes activas y que los policarbonatos tiene muy diversas aplicaciones con lo cual pueden ser otra nueva fuente de contaminación estrogénica para humanos y animales.

¿Donde se encuentra el Bisfenol A y sus derivados?

Fundamentalmente son los componentes de materiales poliméricos de elevada calidad comercial resistentes a temperaturas elevadas.

Sus oligómeros más frecuentes son: Bis fenol A de glicidil eter (BADGE), Metacrilato del bisfenol A diglicidil eter (Bis-GMA), Di metacrilato del Bisfenol A (BisDMA) y algunos etoxilatos, propoxilatos de Bisfenol A.

Estos materiales se emplean con gran frecuencia como barnices protectores de las latas de conservas de alimentos. La pregunta que se planteó en nuestro grupo de trabajo era: ¿Están estos monómeros en los alimentos? Tras la extracción y purificación por HPLC. Se identificó Bisfenol A por CGL-SM. Los ensayos de estrogenicidad de los extractos en el Test E-SCREEN resultaron positivos. (31)

Otro medio en que habitualmente se encuentran estos oligómeros son los composites y selladores empleados en odontología. Son los productos que pretenden sustituir a las amalgamas.

El análisis por HPLC y CGL-MS ha demostrado la presencia de BFA, BADGE, BisGMA BisDMA y otros oligómeros en los composites los ensayos de estrogenicidad para los selladores y algunos de los composites han resultado positivos. Además la saliva de voluntarios sanos a los que se les ha aplicado sellador ha resultado positiva en los ensayos de estrogenicidad siendo negativa en ensayos previos a la aplicación del policarbonato. (32)

Estos selladores se están empleando para prevenir las caries en niños y adultos. Es una práctica habitual aplicar estos productos a niños entre 6-10 años. En un período de 4-5 años ha desaparecido más del 50% del material aplicado. Analizado simultáneamente el sellador tanto por HPLC como por CGL-MS En todos los casos se puso de manifiesto la presencia de productos como BFA, BADGE, BisGMA y en ocasiones BisDMA.

En el momento actual se desconoce la trascendencia biológica de esta contaminación. La pregunta que cabe hacerse es si es correcto extrapolar la evidencia del riesgo para la salud extraída de grupos reducidos de personas expuestos a concentraciones relativamente elevadas de tóxicos a una estimación del riesgo para la población en general. La respuesta se deberá dar por epidemiólogos. No obstante, es importante resaltar que en nuestro medio, la exposición de una gran parte de la población a niveles medios-bajos de estos xenobióticos es una realidad. Esto significa que aun en el caso de que los estudios, en realización, no conduzcan más que a la demostración de una contaminación real por productos de los cuales conozcamos o probemos su

actividad hormonal estrogénica, estaremos sentando las bases de la evidencia de riesgo real de posibilidad de enfermar para un grupo de población suficientemente importante en número y en repercusión social.

En resumen tras el hecho claro de la exposición de los seres vivos a los agentes químicos del medio ambiente y los alimentos que son considerados por numerosos investigadores en Nutrición como parte del medioambiente (33) Sería conveniente hacer algunas reflexiones

En el último siglo los avances en investigación científica y en salud pública han sido espectaculares. La mejora de los cultivos, la erradicación de plagas y la mayor disponibilidad de alimentos son hechos indiscutibles, en parte debidos estos avances al empleo de productos que se han mencionado a lo largo de esta exposición.

Si bien todo esto es cierto, no se puede abandonar la investigación y el conocimiento de los efectos no deseados de muchos productos químicos que se están utilizando "alegremente", sin necesidad real, ni control sanitario.

Creemos que no solo hay que realizar ensayos de toxicidad sino saber interpretarlos correctamente a la luz de nuevos indicios. Puesto que no solo habrá que considerar un daño físico directo: alteración de tejidos, de órganos, efecto cancerígeno etc. Si no lo que es más dramático el daño diferido causado a las siguientes generaciones como consecuencia de alteraciones en funciones biológicas en los individuos. Por esto, cada vez más, en la comunidad científica se está considerando un nuevo campo de investigación como es la Toxicología Funcional.

Por último y de acuerdo con Jean Rostand "la obligación de perdurar nos da derecho a conocer".

BIBLIOGRAFÍA

- (1) CARSON, R.: *Silent Spring* (1962), Houghton Mifflin Company, Boston USA
- (2) COLBORN, T., CLEMENT, C.: "Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/Human Connection" (1992), Princenton Scientific Publishing, Princenton, N.J.
- (3) MACLACHLAN, J. A.: "Functional Toxicology: A new Approach to Detect Biologically Active xenobiotics". *Environ. Health Perspec* (1993), **101(5)**:386-387
- (4) SOTO, A. M., SONNENSCHNEIN, C.: "The role of estrogen on the proliferation of human breast tumor cells (MCF-7)". *J Steroid Biochem* (1985) **23**: 87-94.
- (5) COLBORN, T., VOM SAAL, F. S., SOTO, A. M.: "Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans". *Environ. Health Perspect* (1993) **101**: 378-384.
- (6) KUPFER, D.: "Effect of pesticides and related compounds on steroids metabolism and function". *Crit Rev Toxicol* (1975), **4**: 83-124
- (7) BUSTOS, S. DENEGRI, J. C., DÍAZ, F., TCHERNITCHIN, A. N. "P-P' DDT is an estrogenic compound". *Bull Environ Contam Toxicol* (1988), **41**: 496-501