

LOS ESTRÓGENOS AMBIENTALES EN CANARIAS: POSIBLE RELACIÓN CON EL CÁNCER DE MAMA

ARÁNZAZU CAMPOS GUTIÉRREZ

INTRODUCCIÓN

El concepto de estrógenos ambientales (EA) incluye un gran número de compuestos químicos de estructura química diferente y que sólo comparten su capacidad para afectar al sistema endocrino de los diferentes organismos vivos al mimificar total o parcialmente la acción de las hormonas estrógenicas fisiológicas⁽¹⁻²⁾. Uno de los principales problemas que plantean este tipo de sustancias es que no presentan semejanza alguna en su estructura química. Esta consideración implica una conclusión más o menos alarmante: no sabemos a cuántos EA estamos expuestos y qué efectos están produciendo sobre los seres vivos.

Los efectos fisiológicos de los estrógenos son numerosos: regulan el crecimiento celular y tisular, la reproducción, el metabolismo, la inmunidad, mantienen los ciclos reproductivos y aseguran un equilibrio entre los diversos sistemas y aparatos.

RESUMEN

Las principales consecuencias de la exposición a los estrógenos ambientales compuestos (EA) son la disminución de la capacidad reproductiva, la aparición de anomalías en el tracto urogenital y la aparición de tumores estrógeno-dependientes (como el cáncer de mama) en la especie afectada. Entre los EA más importantes podemos destacar: ciertos pesticidas (organoclorados fundamentalmente), productos asociados a la síntesis y degradación de plásticos (bisfenoles), fármacos (estrógenos sintéticos), productos de uso doméstico (alquilfenoles), y contaminantes ambientales de origen industrial (bifenilos policlorados - PCBs -).

ABSTRACT

Many natural and synthetic products present in the environment possess estrogenic activity. For example: pesticides (organochlorines), plasticizers (bisphenols), surfactants for detergents (alkylphenols), Polychlorinated biphenils (PCBs), phytoestrogens and mycoestrogens. They own a very varied chemical structure and the only thing they have in common is their capacity to binding to estrogen receptor (ER). The direct consequence of the exposure to these compounds is the diminished reproductive capacity, the increased presence of abnormalities in the urogenital tract and also the increased incidence of estrogen-dependent tumors in the affected species.

Es indudable que la presencia en el medio ambiente de compuestos con posibles efectos estrogénicos puede dar lugar a múltiples efectos deletéreos. Básicamente podemos resumir los efectos producidos por los EA sobre los animales y el hombre en los siguientes:

- Niveles anormales de hormonas en sangre
- Reducción de la fertilidad
- Alteraciones del sistema inmunológico
- Feminización de machos
- Criptorquidia
- Disminución del conteo de espermatozoides
- Tumores de los tractos genitales masculino y Femenino
- Malformaciones del aparato reproductor
- Alteración de la estructura y densidad ósea
- Desarrollo de tumores estrógeno-dependientes

La consecuencia principal de todos estos efectos es la disminución de la capacidad reproductiva de la especie afectada.

Los EA los podemos clasificar según su origen en:

- *Origen natural*: fitoestrógenos (p.e.: cumestrol) y micoestrógenos (p.e.: zearalenona).
- *Origen sintético* (contaminantes de origen industrial o antropogénicos), entre ellos destacamos:

a) Alquilfenoles: los alquilfenoles y sus derivados (etoxilatos) se han usado como detergentes industriales e incluso domésticos, así como en productos cosméticos. Asimismo, otros derivados han sido ampliamente empleados como antioxidantes para plásticos. Este tipo de productos son contaminantes habituales de aguas pluviales o marinas en las que se viertan aguas residuales, ya que sólo son parcialmente degradados en las plantas depuradoras. Además, son concentrados por organismos acuáticos y aves marinas, los cuales llegan a presentar concentraciones de estos compuestos en sus órganos cientos de veces superiores a las que se encuentran en el medio. Actualmente, diversos tratados internacionales han prohibido la utilización de estos productos, sin embargo, tal prohibición no será absoluta y efectiva hasta el segundo decenio del 2000.

b) Compuestos Organoclorados⁽³⁻⁵⁾: los compuestos organoclorados (insecticidas principalmente) fueron comercializados a gran escala después de la segunda guerra mundial. Son hidrocarburos cíclicos, muy estables en los diferentes ecosistemas por su escasa biodegradabilidad, debida a que el átomo de cloro sustituyente en la molécula es relativamente poco reactivo, aunque acaban siendo metabolizados a productos menos halogenados e hidroxilados.

Tienen altos coeficientes de partición y por tanto baja solubilidad en agua. El enlace C-Cl no es polar, son muy liposolubles y, por lo tanto, tienden a acumularse en ambientes hidrofóbicos, tales como la materia orgánica de suelo o depósi-



FIGURA 1

tos grasos de plantas, hombres y animales⁽⁶⁾. Además sufren procesos de bioamplificación y biomagnificación a través de las cadenas tróficas.

Los insecticidas organoclorados se clasifican en:

b.1) Halogenuros de hidrocarburos alifáticos: son insecticidas gaseosos que se aplicaron para la conservación de semillas y la desinsectación de suelos. Ej: Bromuro de metilo, dibromuro de etileno, dicloruro de etileno, dicloruro de etileno, clorpicrina, etc...

b.2) Derivados halogenados de los hidrocarburos aromáticos: como insecticidas, actúan eliminando insectos en cualquiera de sus formas o impidiendo su reproducción, por esterilización o por acción sobre el huevo. El primero que se sintetizó fue el hexaclorociclohexano. Podemos distinguir como compuestos más significativos el grupo del DDT (dicloro-difenil-tricloroetano), metoxicloro, pertano, etc..., y el grupo de el hexaclorociclohexano (HCH, isómeros a, b, g).

Las primeras moléculas de DDT fueron sintetizadas por Othmar Zeidler, en la Universidad de Estrasburgo en 1874. En 1936 Paul Müller descubrió las propiedades insecticidas del DDT, por lo que le concedieron el Premio Nobel en Medicina y Fisiología en 1948. Éste ha sido usado como instrumento para luchar contra el tifus y también en programas de erradicación de la malaria. Hoy en día el DDT ha sido prohibido en la mayoría de los países industrializados, pero todavía está siendo usado en la mayoría de los países subdesarrollados y tropicales en relación con la producción agrícola (arroz y tabaco, fundamentalmente).

El hexaclorociclohexano, también llamado hexacloruro de benceno (HCB), fue sintetizado en 1825 por Faraday, pero sus propiedades insecticidas no fueron descubiertas hasta 100 años después. La producción comercial de (HCH) comenzó en 1930. Fue usado en muchos países como fungicida hasta 1970. Cantidades considerables fueron generadas como productos de deshecho de varios procesos químicos. Hoy en día, la mayor cantidad de HCH aparece en los

deshechos industriales de la fabricación de compuestos clorados y la combustión de residuos orgánicos.

b.3) Ciclodienos: fueron introducidos en la agricultura en 1945, y el heptacloro en 1948. Entre ellos destacamos:

- Derivados del Dimetanonaftaleno

- Aldrín
- Dieldrín (epóxido del anterior)
- Isodrín (isómero del aldrín)
- Endrín (epoxido del anterior)

- Derivados del Indano

- Clordano
- Heptacloro
- Heptacloroepóxido

- Derivados del Biciclo-heptano

- Endosulfán
- Bromodan

b.4) Terpenos clorados:

- Toxafeno

Los organoclorados son neurotóxicos para el hombre y demás animales vertebrados e invertebrados. Las dosis masivas de organoclorados provocan vómitos o diarreas, que reducen la gravedad de las exposiciones aisladas. No son frecuentes las intoxicaciones agudas, que sobrevienen, sobre todo, por accidentes e intentos suicidas. Sin embargo, es la toxicidad crónica la que mayor riesgo para la salud presenta, por un lado por la ya mencionada capacidad estrogénica y, por otro, por sus efectos carcinogénicos, inmunodepresores (generan atrofia en la corteza del timo y reducción de los folículos linfoides, así como disminución del número de linfocitos) y hepatotóxicas y mutagénicas.

c) Bifenilos policlorados (PCBs)⁽⁶⁾: los primeros bifenilos policlorados fueron sintetizados en 1864, pero su producción comercial no comenzó hasta 1920. Los PCBs están constituidos por dos moléculas bifenílicas con un número variable de sustituyentes de átomos de cloro. Las propiedades que poseen los PCBs los hacen muy útiles en la industria por sus altas constantes dieléctricas, baja solubilidad en agua, miscibilidad con material orgánico y alta estabilidad térmica. El uso primario de los PCBs ha sido como líquido aislante en los capacitadores eléctricos y transformadores. Los PCBs han sido usados en las unidades de cambio calientes, sistemas hidráulicos, bombas de vacío, turbinas de transmisión de gases, plastificadoras (decoración interior), adhesivos (resistentes al agua para revestir paredes), tintas, pinturas y papel de copia de carbón. Los pequeños capacitadores que contenían PCBs fueron comunmente usados en lavadoras, sistemas de lavado de ropa en seco, campanas de hornos microondas y lámparas fluorescentes hasta 1978.

Los efectos tóxicos de los PCBs incluyen cambios en los ciclos menstruales afectando al metabolismo lipídico, hiperplasia gingival, daño digestivo, irritación ocular, síntomas agudos como pérdida de memoria, dolor de cabeza, irritabilidad, disminución de la agudeza mental, dolor continuo de las articulaciones, debili-



FIGURA 2

dad muscular y fatiga. Los PCBs también se han relacionado con el cáncer de hígado y de pulmón, así como con alteraciones de la función reproductiva (p.e.: impotencia). Al igual que los pesticidas organoclorados, son muy liposolubles y sufren procesos de bioamplificación y biomagnificación a través de las cadenas tróficas.

ORGANOCORADOS , PCBs Y CÁNCER

Es importante señalar la ubicuidad de los EA de tal modo que todos estamos expuestos diariamente a su actividad estrogénica pues son muchos los alimentos o las aguas que están contaminados con residuos de pesticidas organoclorados y PCBs.

Así, por ejemplo, recientes estudios demuestran que diversos estrógenos sintéticos son cedidos en muchos casos por los materiales plásticos que conservan los alimentos como por ejemplo las tarrinas de mantequilla y otras conservas, sandwichs envasados en plástico, etc... Podemos afirmar pues, que cada día podemos ingerir un gran número de estrógenos sintéticos de diferente estructura química. Coordinado por la FAO existe un programa para determinar en muestras biológicas (leche, huevos, carne e hígado de vaca y cerdo, aceite de hígado de pescado) la concentra-

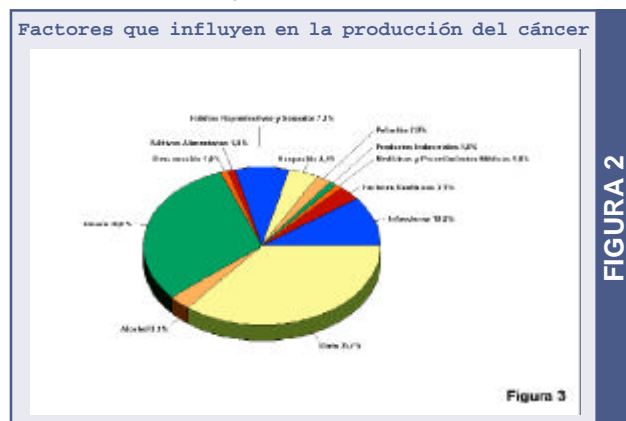


FIGURA 2

ción de DDT, PCBs, Toxafeno, HCH, Heptacloro e isómeros. La mayor cantidad de estos compuestos se encuentra en el pescado, luego en las grasas y aceites, seguidos de los huevos y por último de la carne. La ingesta diaria admisible (IDA) de PCBs es aproximadamente de 0,003 mg/2000 Kcal en el ser humano⁽⁶⁾. Estudios sobre las causas del cáncer han estimado que un 35% de la mortalidad producida por el cáncer en humanos, es atribuible a factores dietéticos.

Sin embargo, existen otros muchos factores implicados en el desarrollo del cáncer: factores genéticos y agrupamiento familiar, lesiones benignas tisulares, factores reproductivos, la obesidad, hábito tabáquico, alcohol, etc...

Se han encontrado residuos estadísticamente significativos de b-HCH en suero de pacientes con cáncer de mama, siendo las personas con mayor cantidad de tejido adiposo mamario las que presentaban mayor cantidad de b-HCH. La mayor cantidad de DDT y PCBs en el cáncer de mama ha sido encontrado en los tejidos malignos⁽⁷⁻¹⁰⁾.

OBJETIVOS DEL TRABAJO

Los estudios realizados en las distintas zonas del planeta con características socioeconómicas parecidas a la Comunidad Autónoma de Canarias (existencia de un sector agrícola importante), han demostrado la presencia en mujeres afectas de cáncer de mama frente a mujeres que no presentan la citada patología, de niveles altos (en suero y tejido adiposo) de diversos contaminantes químicos con capacidad estrogénica.

La existencia de una elevada tasa de incidencia de cáncer de mama en nuestra Comunidad por encima de todos los registros españoles y el hecho de que Canarias es la región europea con mayor índice de pesticidas por hectárea de suelo cultivado, nos ha llevado al estudio de la posible relación de la exposición a estos compuestos y la presencia de la patología mamaria. Además, las tasas de incidencia de este cáncer en Canarias en los últimos años sugieren una clara tendencia al incremento.

En este trabajo determinaremos la presencia de residuos de PCBs y organoclorados que puedan aparecer en suero de la población de las mujeres de Canarias. Para este estudio disponemos de muestras de suero de 500 mujeres sanas y de 500 mujeres afectas de cáncer de mama.

El Servicio Canario de Salud cuenta con una Unidad de Registro Poblacional de Cáncer, lo que facilita una ayuda extra al soporte operacional de cualquier estudio relacionado con el cáncer. Aprovechando

las especiales circunstancias que se dan en el Archipiélago Canario y el apoyo del Servicio Canario de Salud prestado a través de su Unidad de Registro poblacional de cáncer, su red de Hospitales, Centros de Salud y Área de Epidemiología, Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria (ULPGC), se realizó el diseño de un estudio sobre la etiología del cáncer de mama, intentando encontrar las razones de la alta incidencia de la citada patología en nuestro medio.

Desarrollando este estudio, nuestro equipo, la Unidad de Toxicología del Dpto. de Ciencias Clínicas de la ULPGC, es la encargada de realizar el análisis de pesticidas organoclorados y PCBs en las distintas muestras enviadas. Dichas muestras son suministradas por la ENCA (Encuesta Nutricional de Canarias, suero de mujeres sanas) y por los Hospitales Universitarios de nuestra región (suero de mujeres enfermas).

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos

Salvo indicación contraria, los solventes (hexano, metanol, etanol, isooctano), y productos puros utilizados (Estándar Interno: Pentacloronitrobenzeno; Control Interno: Clorotalonil, Clorpirifos, DCPA y d-BHC; Patrones: Aldrín, a-HCH, b-HCH, g-HCH, 4,4'-DDD, 4,4'-DDE, 4,4'-DDT, Dieldrin, Endosulfan I, Endosulfan II, Endosulfan sulfato, Endrin, Endrín aldehído, Heptacloro y Metoxicloro) fueron adquiridos a Supelco (Sigma-Aldrich Química S.A.).

Muestras

Muestras biológicas de suero de la población Canaria suministradas por la ENCA y Hospitales Universitarios de Canarias.

Equipo

Cromatógrafo de gases Hewlett Packard HP 6890 equipado con detector captura de electrones (ECD), Columna capilar Supelco SPB-5 (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm).

Metodología

Extracción

Se realizó una primera fase de extracción líquido-líquido con metanol y hexano y metanol, concentración en atmósfera de nitrógeno y una segunda fase de extracción líquido-sólido en columna de

florisil (Varian) con hexano y concentración final en atmósfera de nitrógeno. La inyección se realizó, previa resuspensión, en isoocetano.

Condiciones del cromatógrafo de gases:

El método por nosotros desarrollado es una variación del método de Greizerstein et al.⁽¹¹⁻¹³⁾, que nos permite analizar un amplio rango de pesticidas clorados y PCBs.

- *Parámetros de inyección:*
 Temperatura: 250°C
 Volumen de inyección: 1 ml
 Modo: Splitless
 Purga: 1 min
 Gas transportador: Helio 45 cm/seg (80°C) flujo constante
 Presión de cabeza: 24 psi
 Tiempo: 1.1 min
- *Rampa de Temperatura:*
 Temperatura inicial: 80°C
 Rampas: 1ª rampa: 30°C/min hasta 180°C; 2ª rampa: 3°C/min hasta 205°C (4 min); 3ª rampa: 20°C/min hasta 290°C
 Temperatura final: 290°C (2 min)
- *Parámetros del detector:*
 Temperatura: 320°C
 Gas acondicionador: Nitrógeno, 60 ml/min
 Purga Ánodo: 3 ml/min

RESULTADOS

En cuanto a los resultados propiamente dichos hemos comenzado nuestro trabajo con las muestras que nos van llegando al laboratorio aplicando el protocolo señalado anteriormente, obteniendo los siguientes tiempos de retención para los compuestos estándares que estamos analizando en las muestras problema:

Tabla 1. Tiempos de Retención Medios (t_r), en minutos, de los estándares utilizados en la optimización del método

Aunque son escasas las muestras analizadas para poder concluir resultados válidos podemos

decir que algunas muestras procedentes de mujeres sanas presentan pequeñas cantidades de algún organoclorado en su sangre. Esto es:

t_r	Compuesto
6,892	a-HCH
9,014	b-HCH
9,84	Heptacloro
10,44	Aldrín
11,94	g-HCH
12,273	Heptacloro epóxido
14,05	Dieldrín
14,8	Endrín
16,66	Endrín aldehído
17,814	4,4'-DDE
18,454	Endosulfán sulfato
18,72	4,4'-DDD
18.987	4,4'-DDT
19.194	Endosulfán I
19.76	Endosulfán II
20.727	Metoxicloro

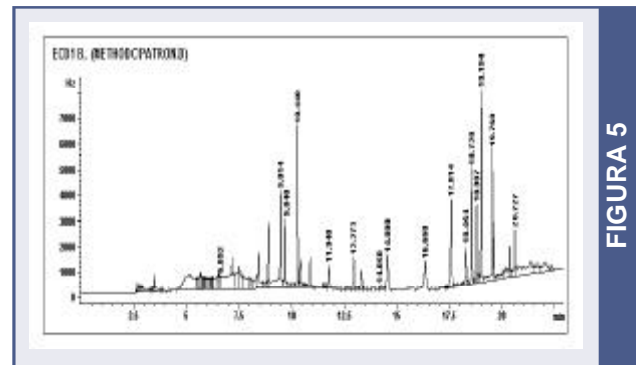


FIGURA 5

Tabla 2. Tiempos de Retención Medios (t_r), en minutos, de los productos detectados en las muestras analizadas

t_r	Compuesto
6,896	a-HCH

DISCUSIÓN

Dichos resultados deben ser tomados con las reservas oportunas por el escaso número de muestras de sangre disponibles y analizadas. Sin embargo, el hecho de que suero procedente de mujeres sanas presenten pequeñas cantidades de pesticidas clorados, nos habla de una exposición de toda la población a este tipo de compuestos tal y como afirmábamos en la introducción de este artículo. Una vez analizadas el total de las muestras, será el análisis estadístico el que establecerá si existe o no una posible relación causal de los EA determinados con la etiopatogenia del cáncer de mama.

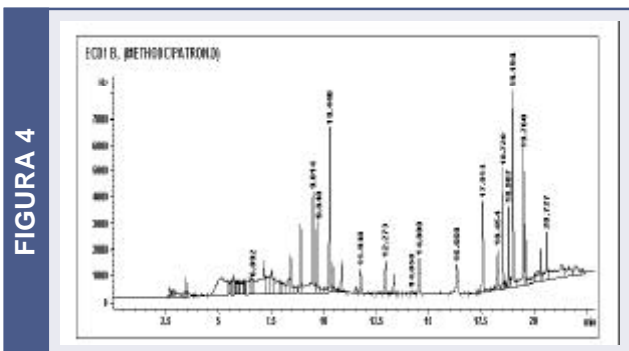


FIGURA 4

• BIBLIOGRAFÍA

- Arnold, S.F.; Klotz, D.M.; Collins, B.M.; Vonier, P.M.; Guillette Jr., L.J. and McLachlan, J.A. (1996):** "Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals". *Science* 272: 1489-1492.
- Soto, A.M.; Chung, K.L. and Sonnenschein, C. (1994):** "The pesticides endosulfan, toxaphene and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen sensitive cells". *Environmental Health Perspectives* 102 (4): 380-383.
- Bokil, S.D. and Iyengar, L. (1975):** "Pesticides in the environment". *Journal of Scientist Industrial Research* 34: 625-650.
- Repetto, M.; Martínez, D. y Sanz, P. (1995):** "Actualización de la toxicología de los plaguicidas". En: *Toxicología Avanzada*, Cap. 14, págs. 557-603. Repetto, M. (Ed.), Díaz de Santos, Madrid.
- Ecobichon, D.J. (1995):** "Toxicology of Pesticides. En: Casarett and Doull's Toxicology". *The Basic Science of Poisons*, Cap. 22, págs. 643-691. Klaaseen, C.D. (Ed.), McGraw Hill, Madrid
- Mussalo-Rauhamaa, H. (1991):** "Residues of certain chlorinated and aromatic compounds in Finnish population groups". *Commentationes Physico-Mathematicae et Chemico-Medicae* 131: 9-97.
- Hunter, D.J.; Hackinson, S.E.; Laden, F.; Colditz, G.A.; Manson J.E.; Willett, W.C.; Speizer, F.E. and Wolff, M.S. (1997):** "Plasma organochlorine levels and risk of the breast cancer". *The New England Journal of Medicine* 337 (18): 1253-1258.
- Falck, F.Jr.; Ricci A.Jr.; Wolff, M.S.; Godbold, J. and Deckers, P. (1992):** "Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer". *Archives of Environmental Health* 47: 143-146.
- Wolff, .S.; Toniolo, P.G.; Lee, E.W.; Rivera, M. and Dubin, N. (1993):** "Blood level of organochlorine residues and risk of breast cancer". *Journal of the National Cancer Institute* 85 (8): 648-652.
- Colditz, G.A.; Hankinson, S.E.; Hunter, D.J.; Willett, W.C.; Manson, J.E.; Stampfer, M.J.; Hennekens, C.; Rosner, B. and Speizer, F.E. (1995):** "The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women". *The New England Journal of Medicine* 332 (24): 1590-1593.
- Varios (1996):** "Pesticides-Water Analysis, GC". En: *HP Environmental Solutions Catalog 1995/1996*, pág. 80, Hewlett Packard Española S.A. (Ed.), Madrid.
- Greizerstein, H.B.; Gigliotti, P.; Vena, J.; Freudenheim J. and Kostyniak, P.J. (1997):** "Standardization of a method for the routine analysis of polychlorinated biphenyl congeners and selected pesticides in human serum and milk". *Journal of Analytical Toxicology* 21: 558-566.
- Storch de Gracia y Asensio, J.M. (1975):** "Técnicas y aplicaciones". En: *Fundamentos de la Cromatografía de Gases*, Cap. 7, págs. 130-142, Ed. Alhambra, Madrid.

• BIOGRAFÍA

Aránzazu Campos Gutiérrez

Licenciada en Farmacia por la Universidad Complutense de Madrid, en esta Universidad realizó los estudios de doctorado incorporándose al Departamento de Farmacología dentro del equipo investigador de la Dra. Revuelta Lizabe, versando su trabajo en el estudio de las propiedades farmacológicas de los antiinflamatorios no esteroideos poliméricos. Fruto del mismo fue la publicación del artículo "Aines Poliméricos" en la revista Química Terapéutica (1993). Posteriormente se incorpora a la Unidad de Toxicología del Departamento de Ciencias Clínicas de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria (ULPGC) realizando tareas de investigación encuadradas en el estudio "*Monitorización analítica de la presencia de contaminantes estrogénicos en la población Canaria y su*

posible relación con la elevada tasa de incidencia de carcinoma de mama en la población femenina canaria", y colaborando en la docencia práctica de dicha Unidad.

Dirección:
 Unidad de Toxicología
 Departamento de Ciencias Clínicas
 Centro de Ciencias de la Salud
 Universidad de las Palmas de Gran Canaria
 Apdo. de Correos 550
 35080 - Las Palmas de Gran Canaria
 España
 Tel: 928 383793
 E-mail: Aranzazu@cicei.ulpgc.es
 C/ Salvador M. de Lara Nº1 5ºE
 35010 Las Palmas de Gran Canaria

Este trabajo ha sido patrocinado por:

**AYUNTAMIENTO DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA y
 CLÍNICA SAN ROQUE, S.A.**