

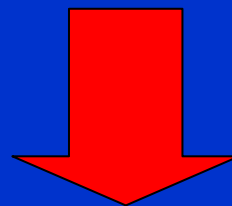


EXPOSICIÓN MATERNO-INFANTIL VÍA PLACENTARIA A COMPUESTOS QUÍMICOS MEDIOAMBIENTALES CON ACTIVIDAD HORMONAL

María José López Espinosa
Facultad de Medicina
Granada
2006

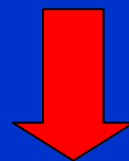


Desde los años 40 hasta los 70, los compuestos organoclorados fueron ampliamente usados como insecticidas



A partir de entonces

Su uso se vio severamente restringido



¿POR QUÉ?



COMPUESTOS ORGÁNICOS PERSISTENTES (COPs)

- **Persistentes**
 - en el medio ambiente
- **Lipofílicos**
 - almacenados en tejido graso
- **Bioacumulables**
 - altos niveles en biota, animales, humanos
- **Tóxicos**
 - carcinogénicos, mutagénicos, teratógenicos
- **Disruptores endocrinos**

ENDOCRINE DISRUPTION

Un disruptor endocrino es una sustancia o mezcla exógena que altera la función o funciones del sistema endocrino, causando efectos adversos en salud en un organismo intacto, o su progenie o poblaciones o subpoblaciones

(European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife, Weybridge 2-4/12/1996)

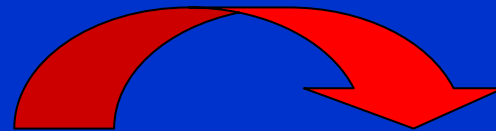




¿CÓMO ESTÁN LAS MADRES EXPUESTAS A COMPUESTOS ORGANOCOLORADOS?

Exposición materna ocurre principalmente a través de:

- Dieta,
- Agua,
- Aire,
- Polvo,
- Suelo,
- Lugar de trabajo.



BIOACUMULACIÓN EN TEJIDO ADIPOSO

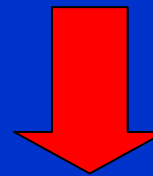


¿CÓMO SE VE EL EMBRIÓN/FETO/RECIÉN NACIDO EXPUESTO A COMPUESTOS ORGANOCLORADOS?

Durante el embarazo y la lactancia



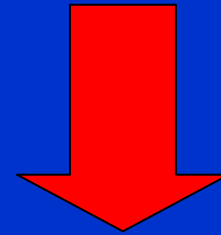
La grasa del cuerpo se moviliza y las sustancias químicas almacenadas en la grasa son movilizadas



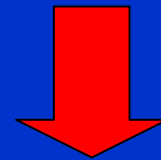
Una proporción de los residuos acumulados en el cuerpo de la mujer puede pasar a través de la placenta al feto y a través de la leche al recién nacido



Las funciones fisiológicas inmaduras del feto y del bebé hacen a estos grupos de edad más vulnerables a los efectos dañinos de los tóxicos



“Los Niños” deberían ser considerados un grupo ESPECIAL



Proyectos

INMA: Infancia y Medio Ambiente (G03/176)

Environmental Reproductive Health (QLRT-1999-01422)

Nuheal and Ernest

SCALE:Scientific, Children, Awareness, Legislation, Evaluation



HIPÓTESIS

La exposición prenatal en *útero* es cualitativa y cuantitativamente importante y esta exposición durante el embarazo puede tener impacto en el recién nacido



OBJETIVOS

- 1** Valorar la exposición a 17 pesticidas organoclorados mediante el análisis de la placenta
- 2** Medir la actividad resultante de la mezcla de xenoestrógenos en la placenta
- 3** Investigar la asociación entre la exposición a organoclorados y variables maternas, paternas, del embarazo y del recién nacido



COHORTE

Una cohorte de mujeres embarazadas fue establecida con el objetivo de investigar exposición crónica a disruptores endocrinos en Granada (2000-2002)

Número de participantes: 668 mujeres dieron consentimiento informado escrito

Recogida de muestras: Sangre de madre, sangre de cordón y placenta

Cuestionario: Incluye datos de residencia, ocupación, medicación, drogas, alcohol, tabaco, enfermedades, características reproductivas, dieta, cosméticos, entre otros



GRUPO DE ESTUDIO

Para el presente estudio, 308 mujeres dieron a luz varones sanos elegidos aleatoriamente de la cohorte

- **Edad** media de las madres 32 años (rango, 16-46 años)
- 41.56% vivían en un **área rural** (<10.000 habitantes)
- 49.67% había completado **estudios primarios** (similar a la frecuencia en padres)
- 53.9% fueron **multíparas**
- Peso medio** al nacer 3306.46g
- 72.5% nacieron de forma **espontánea**
- **Edad gestacional** media 39 semanas y 3 días



PRIMER OBJETIVO:

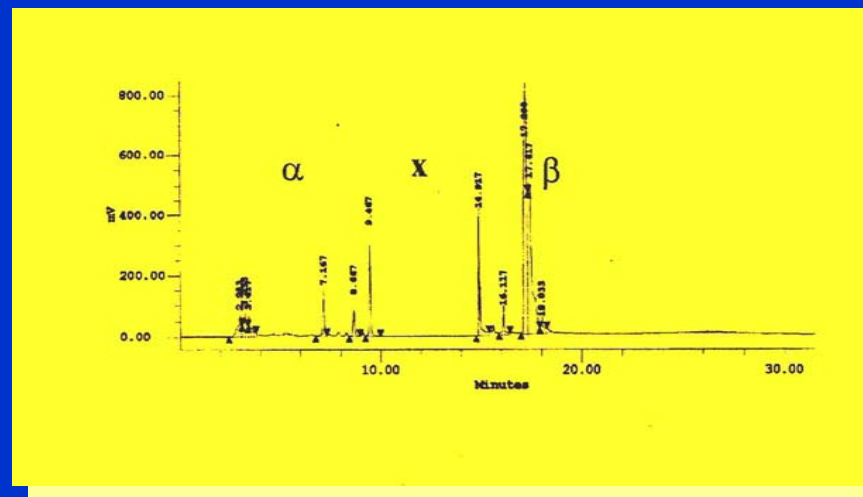
Valorar la exposición a 17 pesticidas organoclorados analizando la placenta



CHEMICAL ANALYSIS

1.- Extracción de pesticidas organoclorados de la placenta con solventes orgánicos

2.- Uso de cromatografía líquida preparativa (HPLC) para la separación de pesticidas organoclorados de estrógenos naturales



 Elution



ANÁLISIS QUÍMICO

3.-Pesticidas organoclorados fueron determinados por: Cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE) (Varian 3350).

- *Compuestos organoclorados (COs)*

- DDT y metabolitos**

- Metoxicloro**

- Mirex**

- Dieldrín, Aldrín, Endrín**

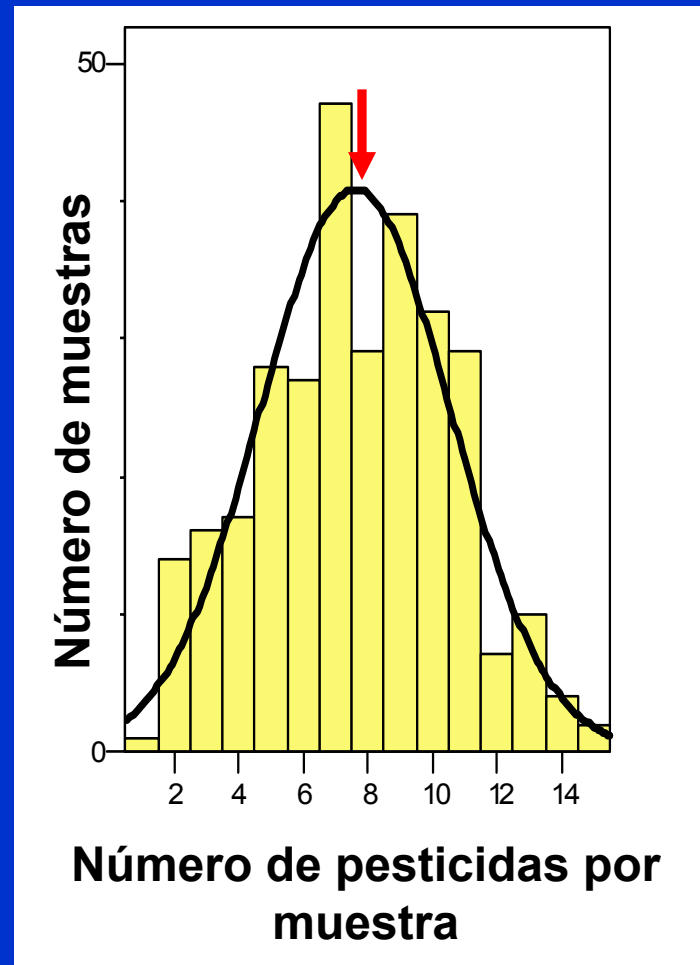
- Lindano (HCH)**

- Endosulfan-I, II y metabolitos**

- Hexaclorobenceno**

4.- Sustancias confirmadas mediante:
Cromatografía de gases con espectrometría de masas (CG/EM) (Saturn 2000 Varian).

NÚMERO DE PESTICIDAS POR MUESTRA



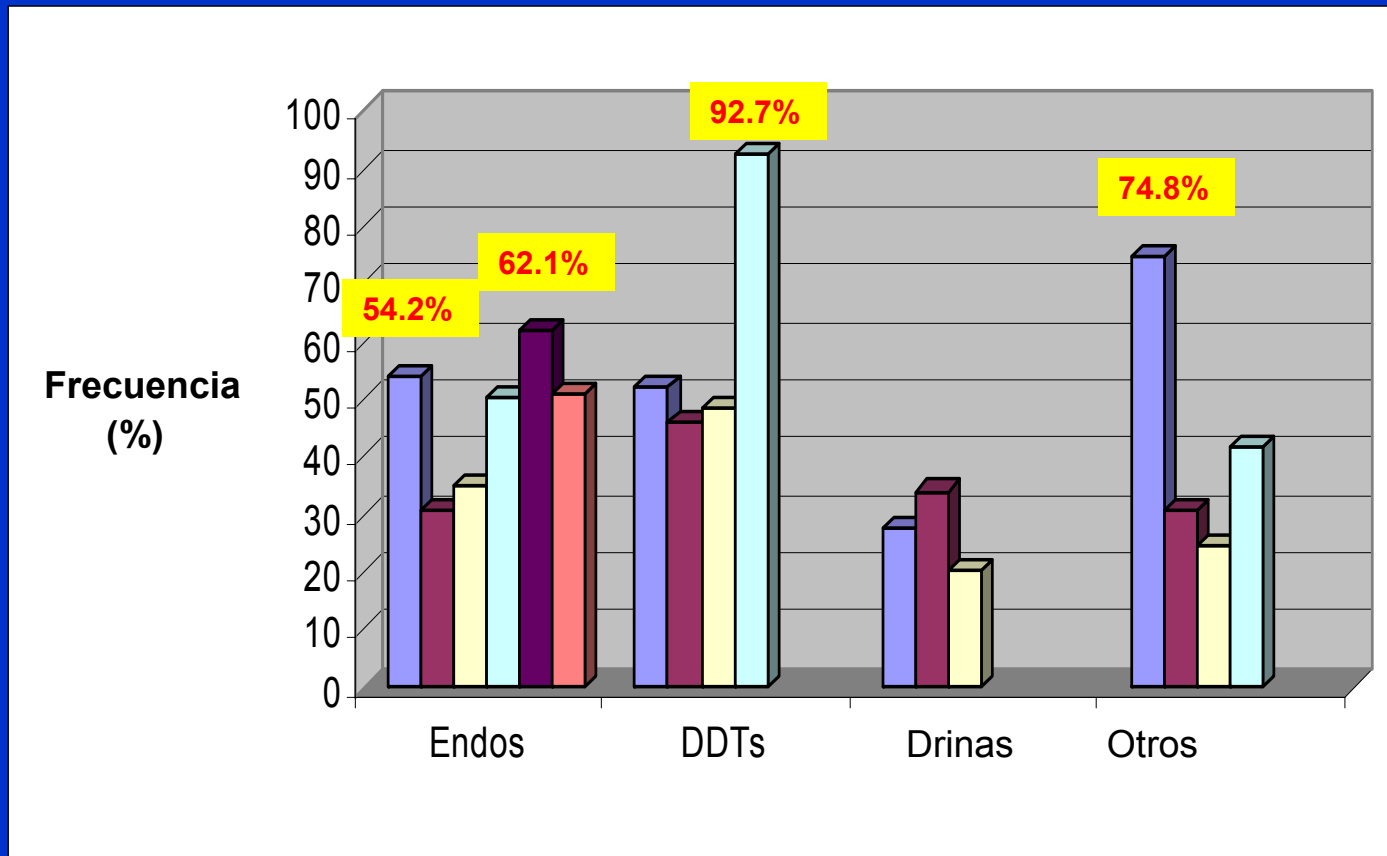
Media=7.61pesticidas/muestra

DE=2.95

N=308



FRECUENCIA DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS EN PLACENTA (N=308)



Endos= E-I, E-II, E-lactona, E-eter, E-diol, E-sulfato
Drinas= aldrín, endrín, dieldrín

DDTs=opDDT, ppDDT, opDDD, ppDDE
Otros= Lindano, metoxicloro, mirex, HCB



NIVELES DE PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS EN 308 PLACENTAS (ng/g placenta y ng/g lípido)

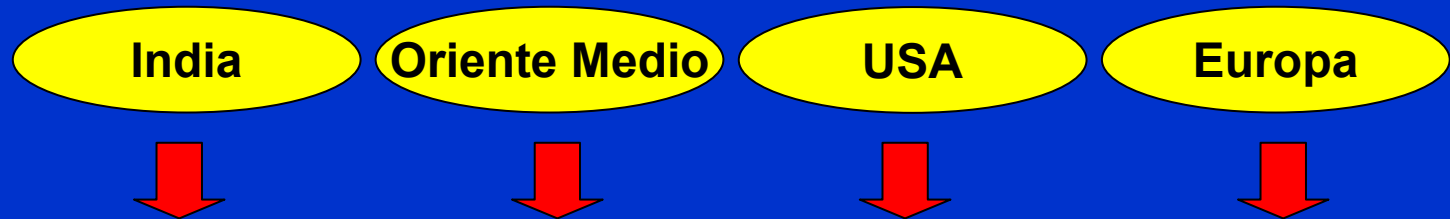
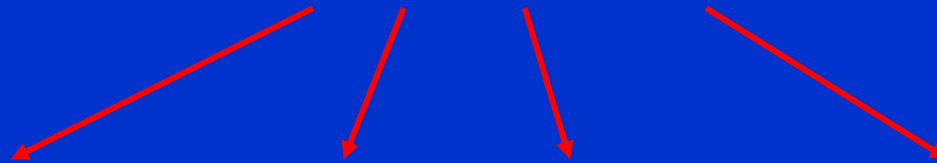
PESTICIDAS	MEDIA (ng/g plac)	DE	MEDIA (ng/g lípido)	DE	MEDIANA (ng/g plac)	MEDIANA (ng/g lípido)
E- I	0.59	1.28	19.87	50.07	0.25	0.25
E-II	0.48	1.20	8.64	35.55	0	0
E-ETER	0.17	0.41	6.83	23.34	0.1	0.1
E-LACTONA	0.97	3.43	36.17	183.19	0	0
E-DIOL	4.15	5.02	156.73	298.77	3.36	66.22
E-SULFATO	0.83	2.25	28.39	70.01	0.25	0.25
Σ ENDOS	7.02	8.33	260.38	471.48	4.76	113.77
o,p´DDT	0.54	0.84	13.28	34.08	0.5	0.5
p,p´DDT	0.77	1.46	27.16	92.93	0	0
o,p´DDD	1.59	3.10	50.11	132.13	0	0
p,p´DDE	2.79	3.77	92.29	155.76	1.62	8.38
Σ DDTs	5.54	5.68	189.04	277.83	3.85	101.69
ALDRÍN	0.31	0.83	7.56	32.24	0	0
ENDRÍN	1.01	1.98	22.93	66.70	0	0
DIELDRIN	0.28	0.93	9.67	37.16	0	0
HCB	0.53	1.16	15.41	46.46	0	0
LINDANO	0.39	0.51	12.28	31.87	0.25	0.25
MIREX	0.31	0.76	13.59	64.15	0	0
METOXICLORO	0.42	1.31	16.31	71.85	0	0



No hay demasiadas publicaciones a cerca de la presencia de pesticidas OC en la placenta



En las pasadas tres décadas



Saxena et al., 1980
Saxena et al., 1981
Siddiqui and Saxena, 1985
Siddiqui et al., 2003

Polishuk et al., 1977

O'Leary et al., 1970
Cooper et al., 2001

Eckenhausen et al., 1981
Hura et al., 1999
Reichrtova et al., 1999
Falcón et al., 2004
Shen et al., 2005

Cerrillo et al., 2005
López-Espinosa et al., 2006



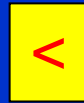
p,p'DDE

Media= 2.79 ng/g placenta
= 92.29 ng/g lípido

Frecuencia= 92.7%



Finlandia (Shen et al., 2005)

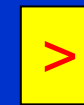


España (Falcon et al., 2004)

India (Siddiqui et al., 2003)



Finlandia (Shen et al., 2005)



España (Falcon et al., 2004)

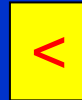


ΣDDTs

Media= 5.54 ng/g placenta
= 189.04 ng/g lípido



Finlandia (Shen et al., 2005)



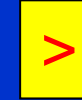
España (Falcon et al., 2004)

Rumanía (Hura et al., 2003)

Frecuencia= 97.7%



Finlandia (Shen et al., 2005)



España (Falcon et al., 2004)



SEGUNDO OBJETIVO:

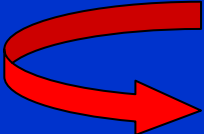
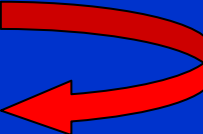
Medir la actividad resultante de la mezcla de xenoestrógenos en la placenta



Biomarcadores de exposición a mezclas de xenoestrógenos

CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA (TEXB)

Muestras de placenta

E-Screen   *YES*

- Va más allá de la cuantificación de estrógenos medioambientales
- Mide la actividad biológica resultante de xenoestrógenos



ANÁLISIS BIOLÓGICO DE ESTROGENICIDAD

EL BIOENSAYO E-SCREEN

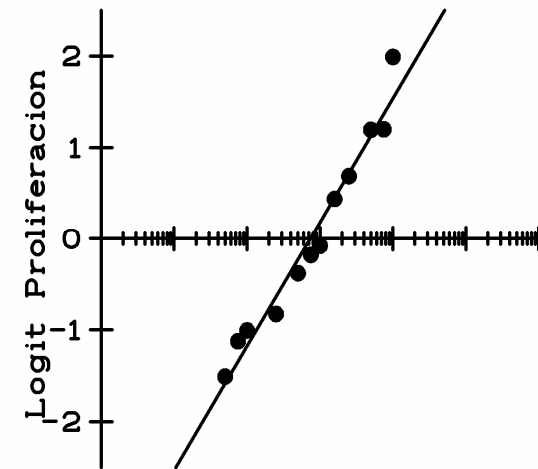
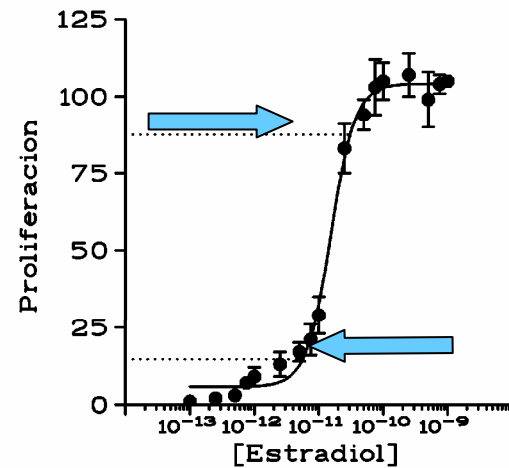
El bioensayo E-Screen compara la proliferación de células de cáncer de mama MCF-7 en cultivo tratadas con estradiol, extractos de placenta y células control (blancos)



Carga estrogénica total efectiva (TEXB)

Evaluación cuantitativa de estrogenicidad

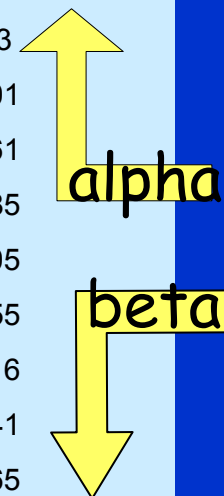
- *Curva de estradiol dosis-respuesta*
- *Equivalentes-estradiol (Eeq)/gramos de placenta o gramos de lípido*





Un método de cromatografía líquida preparativa es usado para la separación de pesticidas organoclorados de estrógenos naturales

Sustancia química	Tiempo de retención (min)	Sustancia química	Tiempo de retención (min)
<i>p,p'</i> -DDT	1,95	<i>o,p'</i> -DDT	5,70
3,3',4,4',5-PCB	2,36	Endosulfan-diol	7,85
BrNPAc	2,48	Dibutil ftalato	9,15
BrNP1EOAc	2,53	Cl ₃ -BPA	9,63
Endosulfan I	2,91	Cl ₂ -BPA	9,93
Pentabromofenileter	2,95	Endosulfan-lactona	10,01
4-bromodiphenileter	3,10	Cl-BPA	10,61
Bis-(4-bromofenil)eter	3,32	Endosulfan-sulfato	10,85
Cl ₄ -BPA	4,31	<i>p</i> -nonilfenol	11,05
BrNP2EOAc	4,33	Esteres de estradiol	13,55
Metoxicloro	4,43	17β- estradiol	16,16
Endosulfan ∑	4,57	Bisfenol F	16,41
<i>p, p'</i> -DDE	4,84	Bisfenol A	16,65
<i>o,p'</i> -DDD	5,41	4,4'-hidroxibenzofenona	17,65





Contenido de la Fracción Alfa

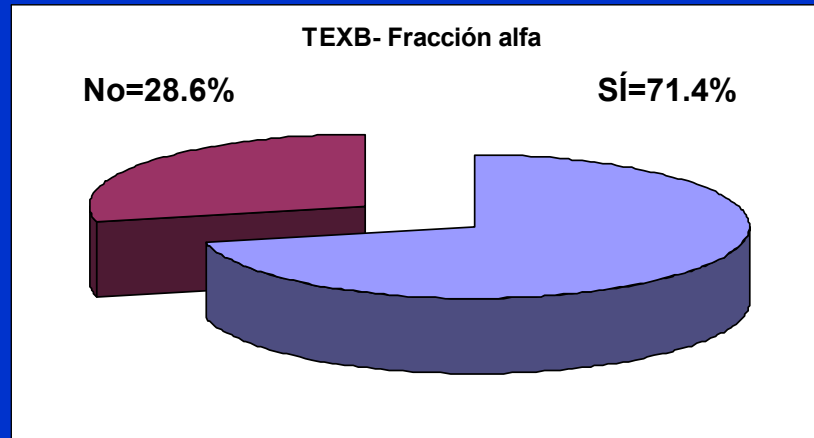
- *Compuestos organoclorados*
- *Libre de hormonas endógenas*
- *Libre de hormonas sintéticas*

Contenido de la Fracción Beta

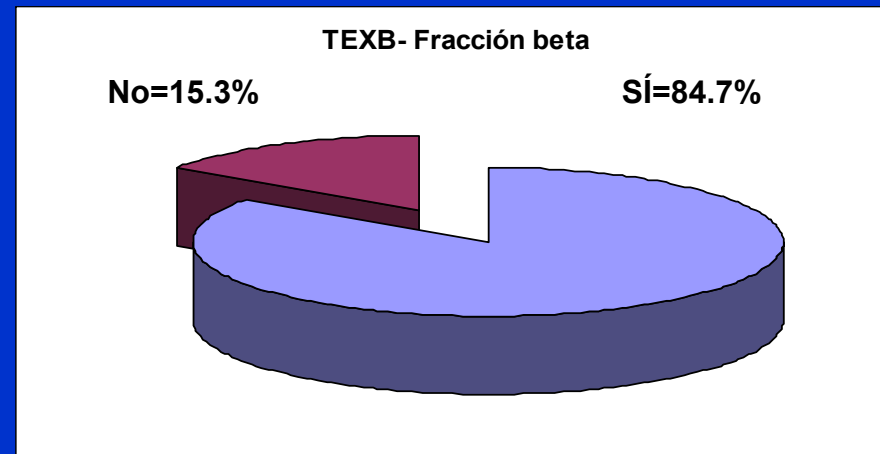
- *Hormonas endógenas*
- *Productos farmacéuticos*
- *Compuestos no organoclorados*
- *Fitoestrógenos*



CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA (TEXB). ESTROGENICIDAD MEDIBLE



E-SCREEN
N=308





VALORES ESTIMADOS DE CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA (TEXB) PARA LA FRACCIÓN ALFA DE 308 PLACENTAS

TEXB-Fracción Alfa				
E-SCREEN	Media	DE	Mediana	Max.
Eeq pM/mL	6.18	13.41	0.80	91.63
Eeq pM/g plac.	3.84	9.73	0.47	111.50
Eeq pM/g lipid.	177.07	398.60	17.73	3041.69



VALORES ESTIMADOS DE CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA (TEXB) PARA LA FRACCIÓN BETA DE 308 PLACENTAS

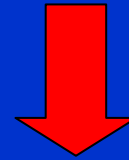
TEXB-Fracción Beta				
E-SCREEN	Media	DE	Mediana	Max.
Eeq pM/mL	35.56	70.43	5.08	353.30
Eeq pM/g plac.	22.82	64.48	3.02	912.41
Eeq pM/g lipid.	1190.97	2603.31	107.38	17588.6 2



TEXB-FRACCIÓN ALFA

Media= 3.84 Eeq pM/g placenta = 117.67 Eeq pM/g lípido

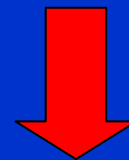
Frecuencia= 71.4%



≈ Niveles y frecuencia

TEXB-alfa en tejido adiposo

(Ibarluzea et al., 2004; Rivas et al., 2001; Fernandez et al., 2004)



La TEXB-fracción alfa ha sido asociada con:

- Incremento en el riesgo de **cáncer de mama** (Ibarluzea et al., 2004)
- Incremento en el riesgo de **criptorquidismo** (Olmos et al., 2006)



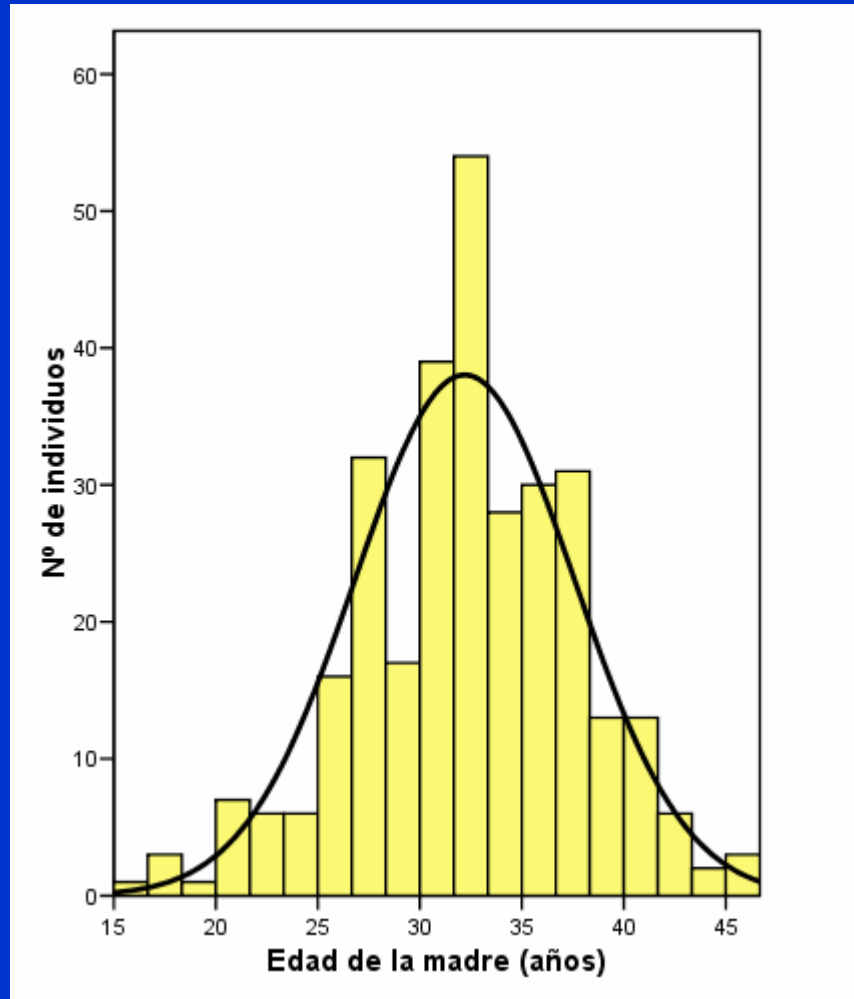
TERCER OBJETIVO:

Investigar la asociación entre la exposición a organoclorados y variables maternas, paternas, del embarazo y del recién nacido



MADRES

Edad



Media=31.91 años

DE=5.35

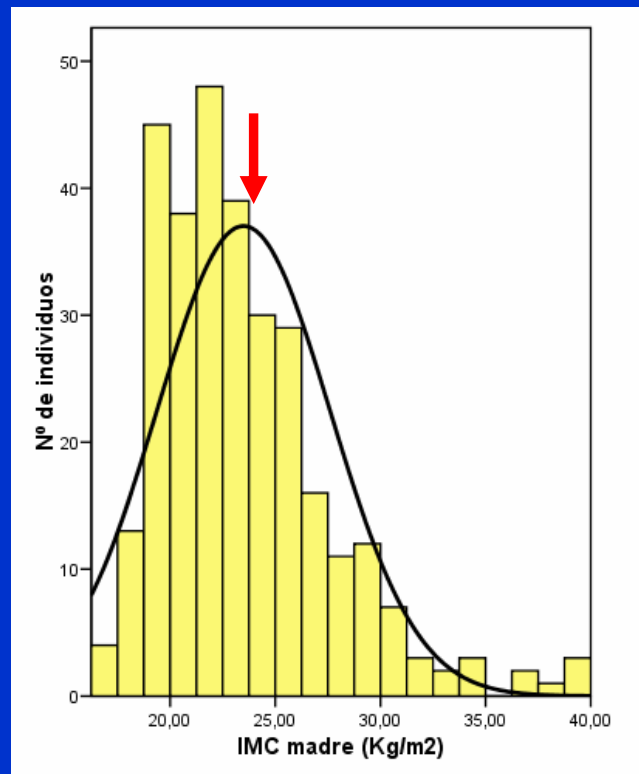
N=308



MADRES

Características antropométricas

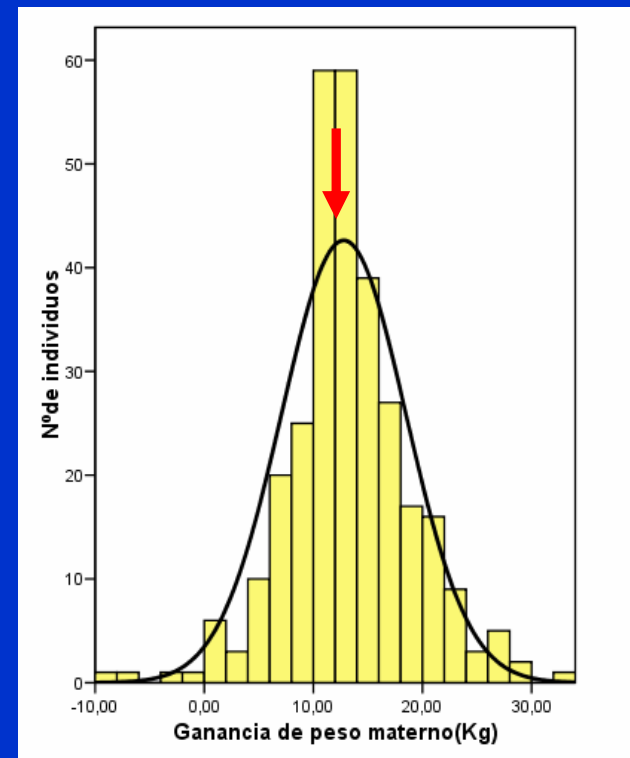
Índice de masa corporal



Media \pm DE=23.49 \pm 4.13Kg/m²

N=308

Ganancia de peso



Media \pm DE=12.78 \pm 5.70 Kg

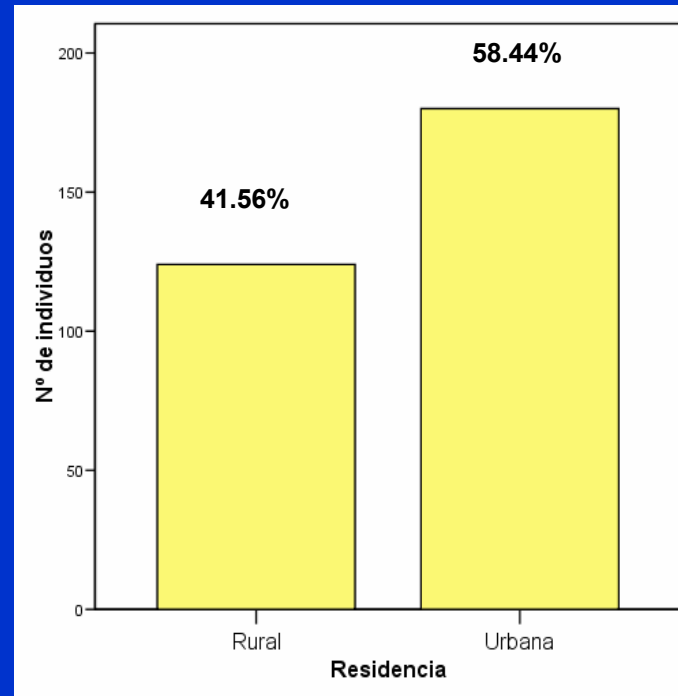
N=308

MADRES

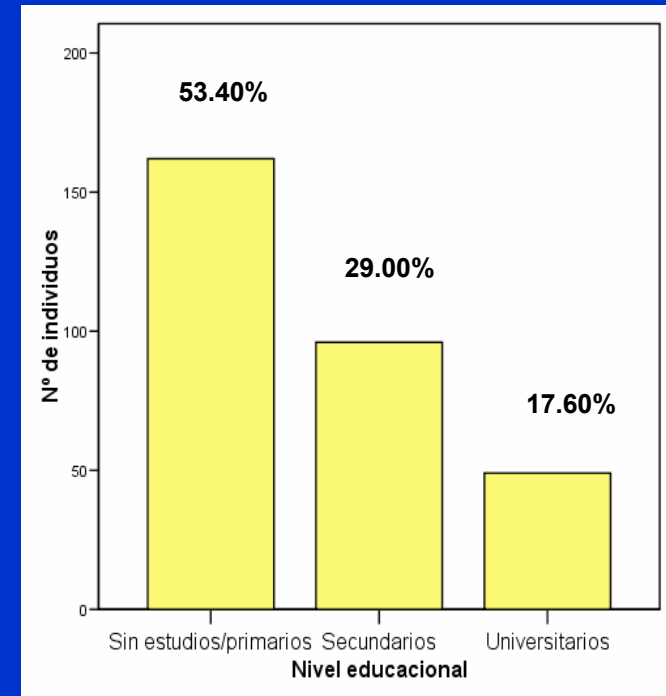
Características sociales y demográficas....



Residencia



Nivel educacional

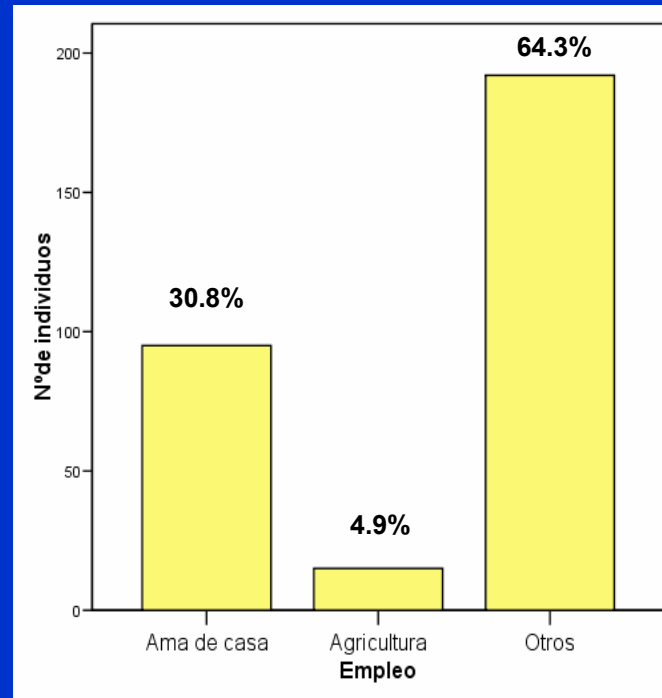




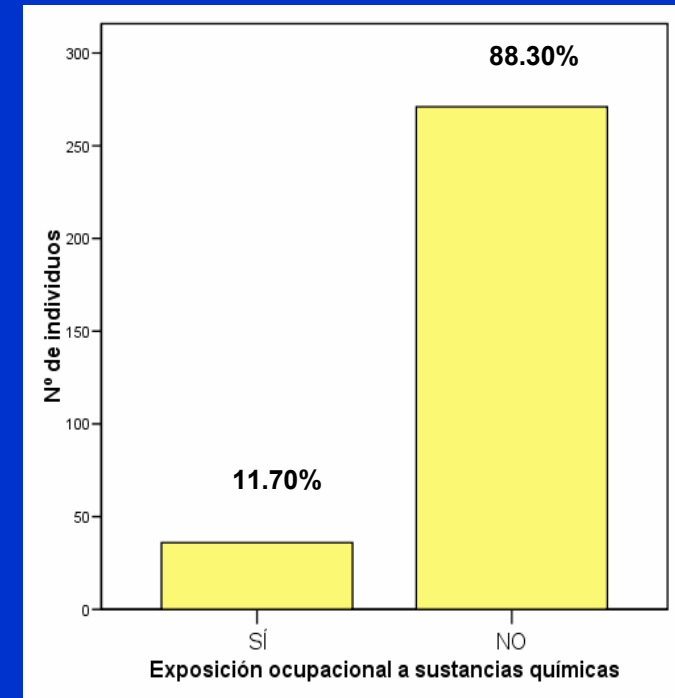
MADRES

Características sociales y demográficas....

Empleo

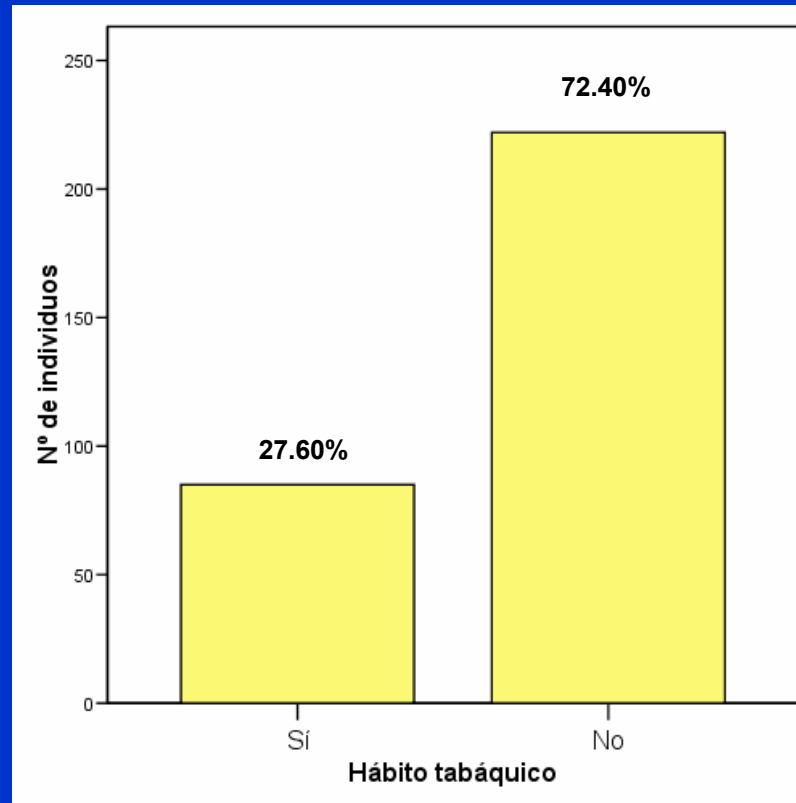


Exposición ocupacional a sustancias químicas



MADRES

Hábito tabáquico

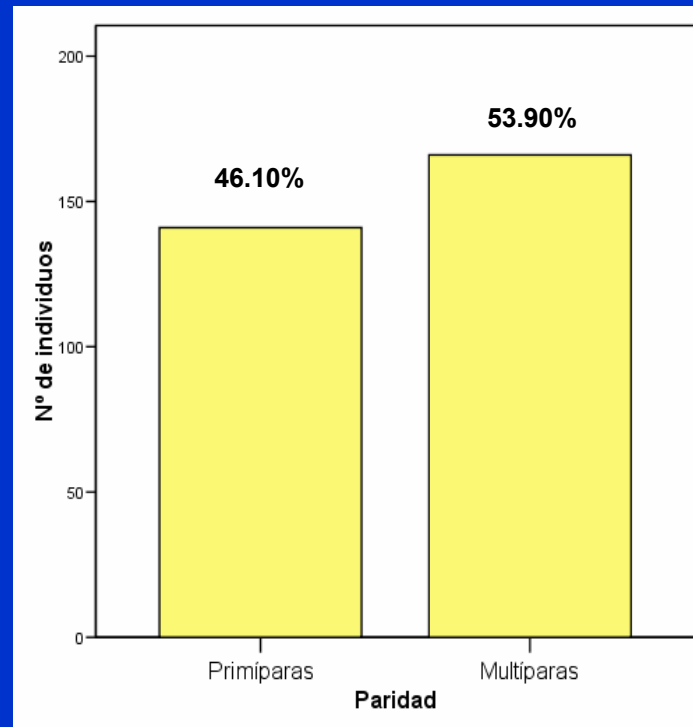




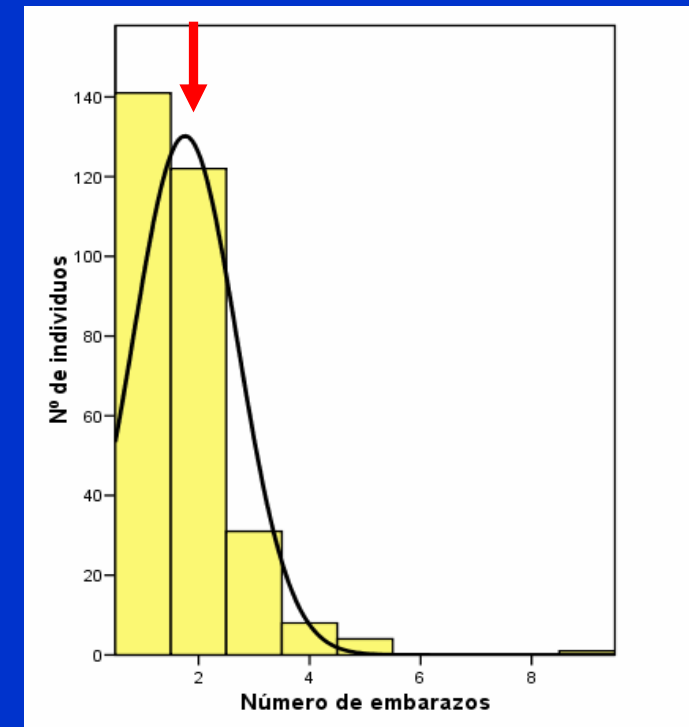
MADRES

Características reproductivas....

Paridad



Número de embarazos



Media±DE=1.76±0.94 embarazos

N=308

FACTORES ASOCIADOS CON LA MAYOR PRESENCIA Y/O ABUNDANCIA DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS/TEXB EN LA PLACENTA

MADRE

Mayor edad → p,p'DDT, TEXB-alfa

Mayor IMC → p,p'DDE, ΣEndosulfanes y lindano

Menor ganancia de peso → p,p'DDE, endrín, ΣDDTs
y lindano

Menor nivel educativo → p,p'DDE y metoxicloro

Mayor exposición laboral → número de pesticidas,
ΣEndosulfanes y lindano

Primiparidad → ΣDDTs

Hábito tabáquico → p,p'DDE, ΣEndosulfanes y
metoxicloro

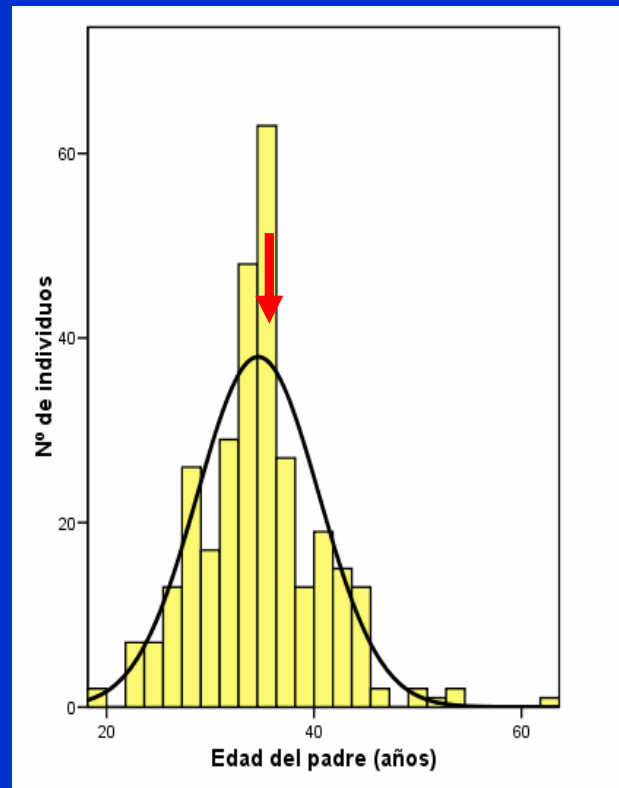




PADRES

Características sociales y demográficas....

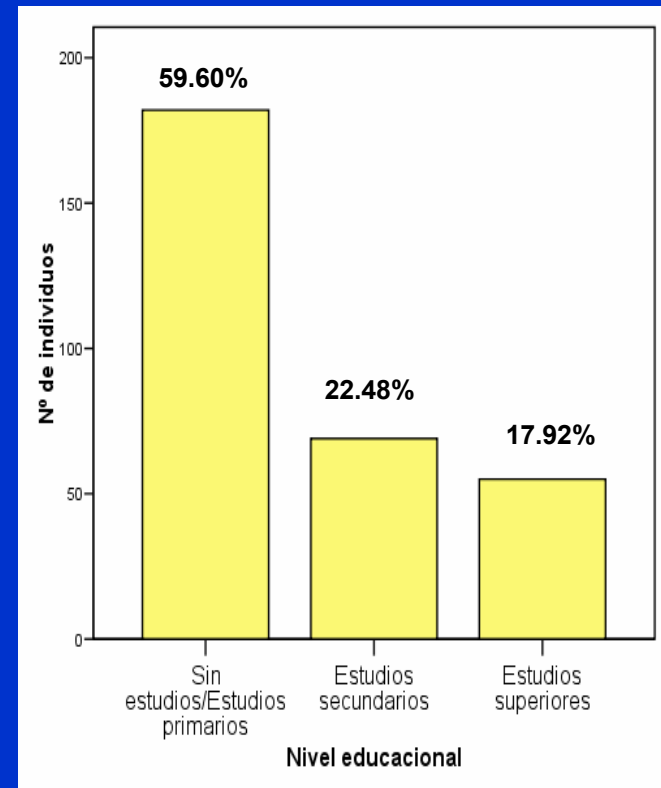
Edad



Media \pm DE=34.60 \pm 5.86 años

N=307

Nivel educacional

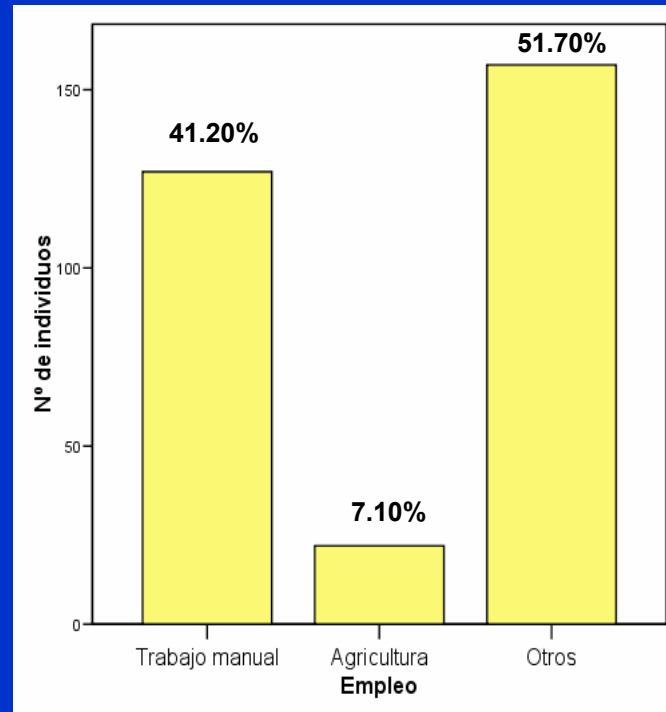




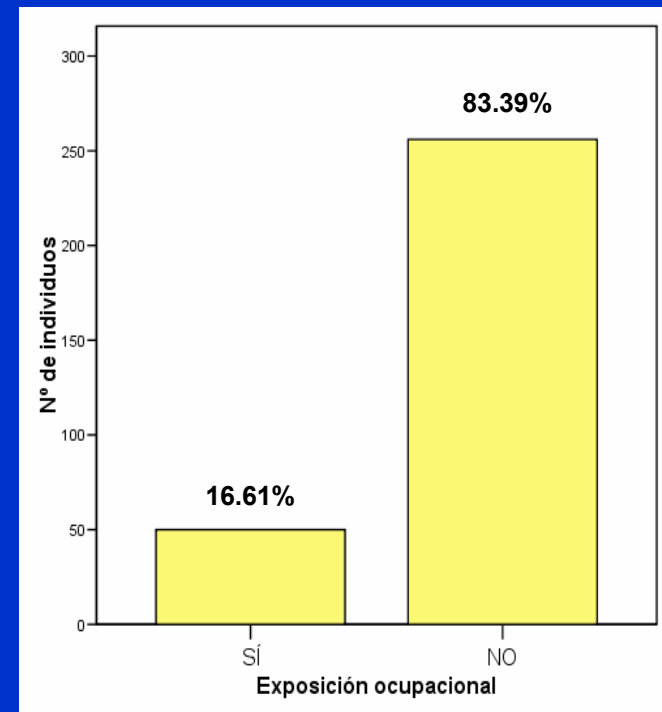
PADRES

Características sociales y demográficas....

Empleo



Exposición ocupacional





FACTORES ASOCIADOS CON LA MAYOR PRESENCIA Y/O ABUNDANCIA DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS/TEXB ALFA EN LA PLACENTA

PADRE

Mayor exposición

→ Lindano y aldrín

El trabajo manual

→ p,p'DDE y lindano

Menor nivel educativo

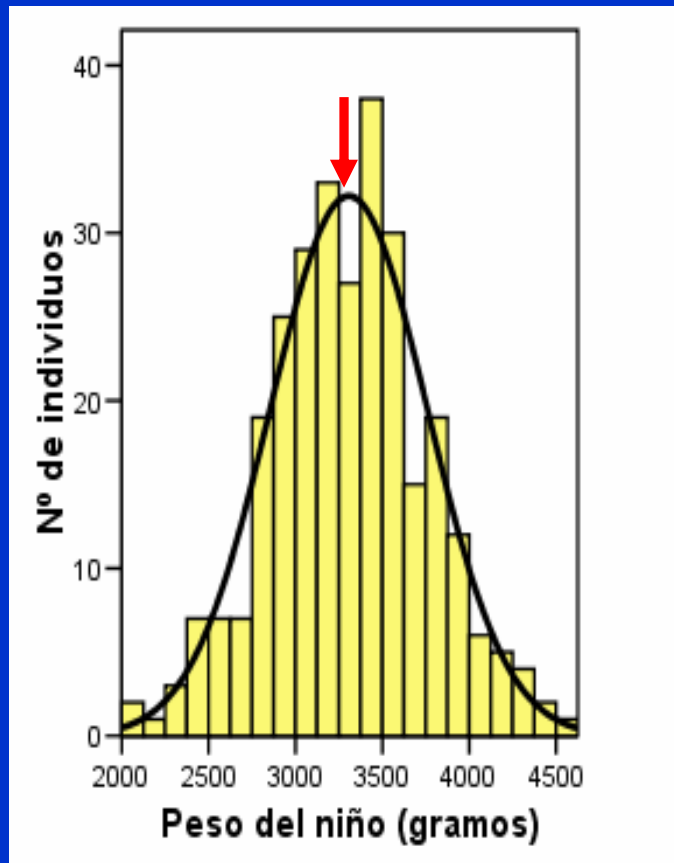
→ número de pesticidas,
lindano y HCB



RECIÉN NACIDO

Características antropométricas....

Peso al nacer



Media=3306.46 g

DE=452.06

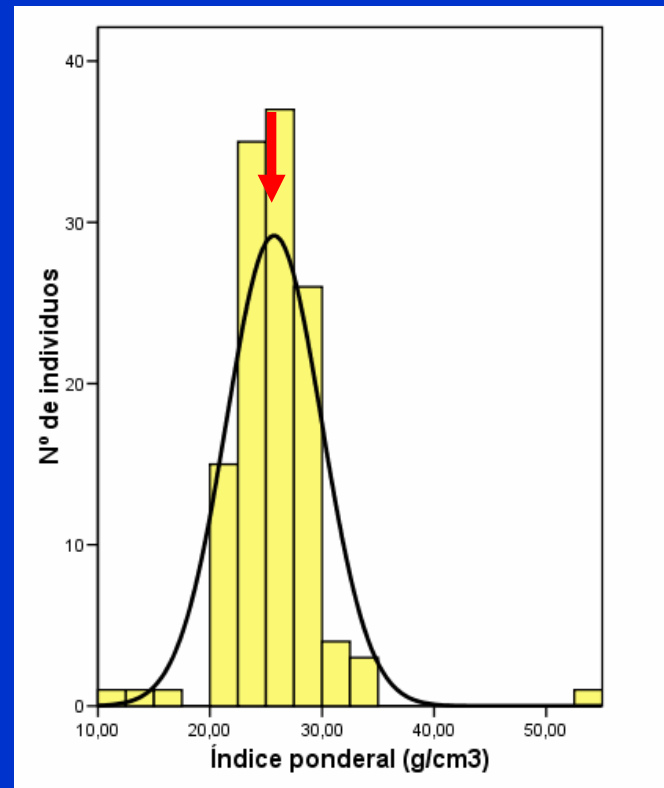
N=308



RECIÉN NACIDO

Características antropométricas....

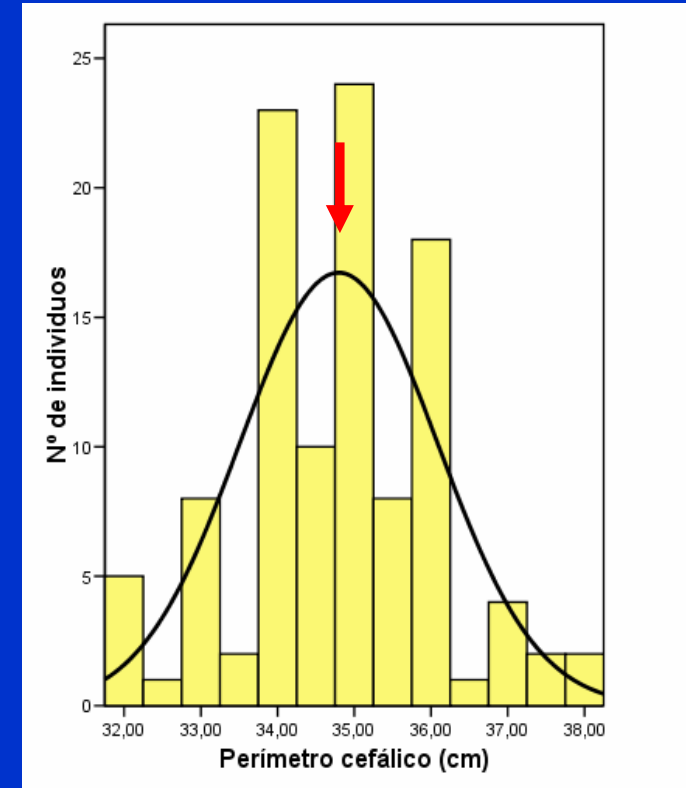
Índice ponderal



Media±DE=25.71±4.28 g/cm³

N=125

Perímetro cefálico



Media±DE=34.80±1.29 cm

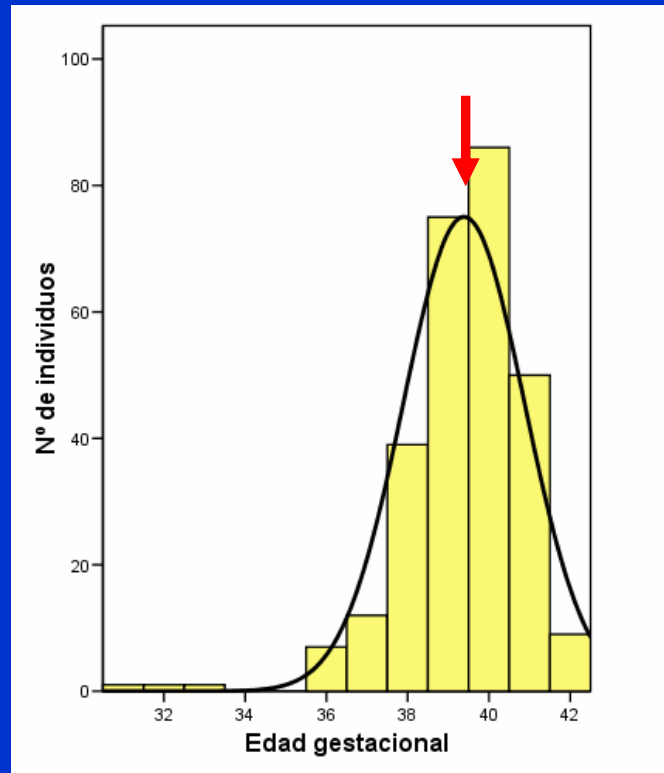
N=108



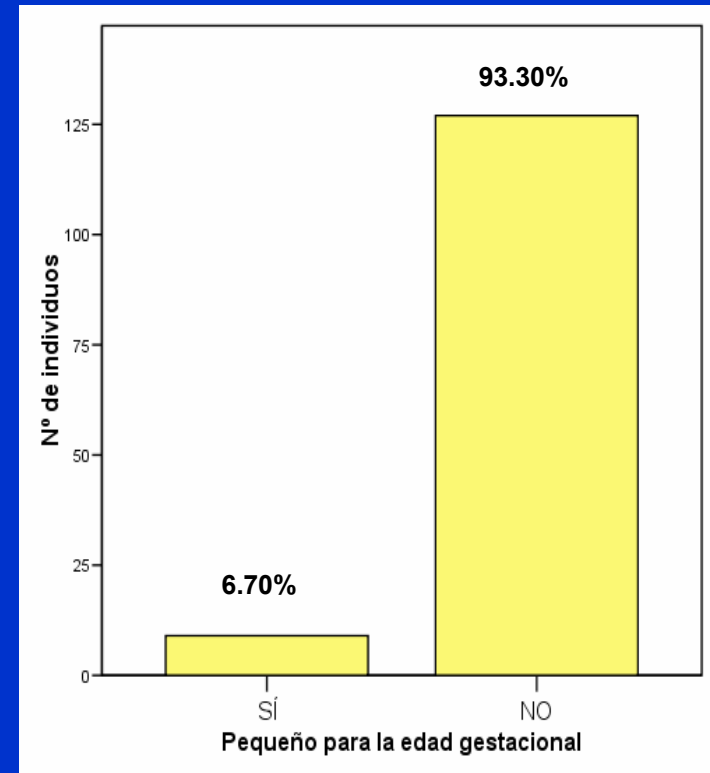
RECIÉN NACIDO

Características del parto....

Edad gestacional



Pequeño para la edad gestacional



Media±DE=39.38±1.49 semanas

N=125



FACTORES ASOCIADOS CON LA MAYOR PRESENCIA Y/O ABUNDANCIA DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS/TEXB ALFA EN LA PLACENTA

CARACTERÍSTICAS DEL EMBARAZO/PARTO /RECIÉN NACIDO

Peso normal a las semanas de gestación → o,p´DDT, p,p´DDT
dieldrín, TEXB alfa

Menor peso del niño → p,p´DDE y Σ Endosulfanes

Mayor peso del niño → TEXB fracción alfa

Menor índice ponderal → Σ Endosulfanes



CONCLUSIONES



1. La exposición materno-infantil de la población de estudio a compuestos químicos contaminantes ambientales es importante tanto cuantitativa como cualitativamente.

2. El número medio de pesticidas por placenta es de 7.61 ± 2.95 residuos de un total de 17 compuestos estudiados.

3. Los niveles medios y la frecuencia de aparición son similares a las de otros estudios europeos.



- 4. Factores asociados con la mayor presencia y/o abundancia de pesticidas organoclorados en la placenta han resultado ser en lo que se refiere a la madre, su mayor edad, índice de masa corporal y exposición laboral; menor ganancia de peso y nivel educativo; primiparidad y hábito tabáquico.**
- 5. En lo referente al padre, una mayor exposición, el trabajo manual y menor nivel educativo.**
- 6. En lo que se refiere a las características del embarazo, parto y recién nacido, el peso normal a las semanas de gestación, menor peso del niño y el menor índice ponderal.**



7. Mayor efecto estrogénico del extracto tisular placentario (TEXB) se ha observado en madres mayores. Pero, al contrario de lo que ocurre para el pesticida más frecuente y uno de los más abundantes (p,p´DDE), TEXB alfa se asocia con mayor peso del recién nacido y peso normal para la edad gestacional, coincidente con lo observado para pesticidas agonistas estrogénicos. Esto sugiere un papel de la estrogenicidad del conjunto de xenoestrógenos acumulados en el desarrollo embrionario-fetal.



8. Las consecuencias sobre el desarrollo del niño de la exposición a pesticidas organoclorados disruptores endocrinos estrogénicos y antiandrogénicos, no son bien conocidos, pero dado que la exposición placentaria ocurre en momentos críticos del desarrollo embrionario y fetal, se pueden prever efectos importantes sobre el recién nacido.