

Exposición prenatal a los plaguicidas organoclorados y criptorquidia

Prenatal exposure to organochlorine pesticides and cryptorchidism

Lilia Patricia Bustamante Montes ¹

Stefan Waliszewski ²

María Hernández-Valero ³

Luz Sanín-Aguirre ⁴

Rosa María Infanzón-Ruiz ²

Arlette García Jañas ²

Abstract *Fetuses and children are more susceptible to the effects of environmental toxins. The objective of this article is to determine the levels of organochlorine pesticides (HCB, β -HCH, pp'DDT, op'DDT and pp'DDE) in the serum lipids of mothers of newborns with cryptorchidism and compare the levels to a control group of mothers of newborns with descended testicles. The cases were composed of newborns with cryptorchidism (n=41), and the controls (n=41) newborns with descended testicles. Blood samples from both groups of mothers were used to determine the organochlorine pesticide levels. Cryptorchidism was diagnosed at birth by a neonatologist. The results showed that the organochlorine pesticide residues were found in the serum lipids of both groups of mothers. The median serum lipid levels (mg/kg-1 lipid-based) were statistically higher for the metabolites pp'DDT (0.464 vs. 0.269) and β -HCH (0.263 vs. 0.192) in the cryptorchidism group compared to the control group ($p < 0.01$). It could be concluded that the levels of the metabolites pp'DDT and β -HCH are higher among mothers of newborns with cryptorchidism. It is possible that substances with anti-androgenic effects could produce endocrine disruption, such as cryptorchidism, during fetal development.*

Key words *Endocrine disrupters, Pre-natal exposure, Cryptorchidism, Organochlorine pesticides*

Resumen *Los productos en desarrollo y los niños son particularmente vulnerables a los tóxicos ambientales. Nuestro objetivo es determinar los niveles de plaguicidas organoclorados (HCB, β -HCH, pp'DDT, op'DDT y pp'DDE) en lípidos séricos de madres de niños con criptorquidia y comparar los niveles con un grupo control de madres de niños con testículos descendidos. El grupo de los casos fue constituido por recién nacidos con diagnóstico de criptorquidia (n=41). El grupo control (n=41) se conformó por niños con testículos descendidos. A las madres de ambos grupos se les determinaron los niveles de plaguicidas organoclorados. La criptorquidia fue diagnosticada al nacimiento por neonatólogo. Residuos de plaguicidas organoclorados fueron encontrados en lípidos séricos de ambos grupos. Los niveles de la mediana (mg/kg-1 en base lipídica) fueron mayores para los metabolitos pp'DDT (0.464 vs. 0.269) y β -HCH (0.263 vs. 0.192) en el grupo con criptorquidia comparado con el grupo control. ($p < 0.01$). Los niveles de los metabolitos pp'DDT y β -HCH son mayores entre las madres de los recién nacidos con criptorquidia. Es posible que sustancias con efectos antiandrogénicos puedan producir disrupción endocrina y criptorquidia durante el desarrollo fetal.*

Palabras clave *Disruptores endocrinos, Exposición prenatal, Criptorquidia y Plaguicidas organoclorados*

¹ Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México. Paseo Tollocan esquina Jesús Carranza s/n. 50180 Toluca Estado de México. patriciab@yahoo.com.mx

² Universidad Veracruzana.

³ The University of Texas M. D. Anderson Cancer Center.

⁴ Universidad Autónoma de Chihuahua.

Introducción

Los estudios epidemiológicos de los últimos años revelan que los casos de desórdenes reproductivos en el hombre se han incrementado, lo que se expresa como disminución del número de espermatozoides, cáncer testicular y defectos congénitos como la criptorquidia e hipospadias¹. Las anomalías pueden relacionarse entre sí y tener su origen común durante el desarrollo.

La hipótesis más fuerte relacionada con el decremento en la salud reproductiva masculina tiene que ver con la exposición a químicos ambientales con actividad estrogénica y/o antiandrogénica, estas sustancias llegan al hombre a través de vapores, alimentos, agua². Entre los contaminantes se enlistan los plaguicidas organoclorados, bifenilos policlorados (PCBs), dioxinas, detergentes y plastificantes³⁻⁶. Los mecanismos de su acción farmacológica no están bien definidos, pero por su actividad hormonal o antihormonal consiste en: modular los efectos de las enzimas que controlan el metabolismo de las hormonas sexuales, influir directamente en las glándulas productoras de hormonas o formar mecanismos de retroalimentación indirecta que afectan a los niveles de estrógenos^{7,8}.

Las primeras doce semanas de gestación son críticas en la diferenciación sexual de los genitales externos del hombre y corresponde además al período de mayor susceptibilidad a los efectos de compuestos que influyen en el balance hormonal. El metabolito de la testosterona, la dihidrotestosterona induce el desarrollo de la próstata y los genitales externos masculinos. Durante la diferenciación sexual, la exposición del feto a niveles residuales de xenoestrógenos puede inducir a anomalías irreversibles. Durante el segundo y tercer trimestre, continúa el crecimiento de estructuras dependientes de los andrógenos. Los compuestos químicos que imitan o actúan como hormonas esteroideas pueden interferir en grados diferentes a la organogénesis, cuya acción depende de su concentración, tiempo de exposición y grado de eficiencia farmacológica^{9,10}.

La criptorquidia, es la ausencia de uno o ambos testículos en las bolsas escrotales e indica, que el testículo queda detenido durante su descenso desde el retroperitoneo hasta la raíz del escroto en algún punto de su trayecto antes de alcanzar su ubicación definitiva en la bolsa escrotal. El descenso de los testículos es determinado por los andrógenos¹¹. La importancia de la criptorquidia para la salud pública radica en que es uno de los pocos factores de riesgo bien esta-

blecidos en la etiología del cáncer testicular, tumor más común en los hombres jóvenes¹².

Algunos compuestos químicos sintéticos con estructura molecular diferente a las hormonas esteroideas, pueden interferir una vez incorporados al organismo en el mensaje transmitido por las hormonas endógenas¹³. Los plaguicidas organoclorados más comunes incluyen: DDT, Metoxicloro, Clordano, Heptacloro, Aldrin, Dieldrin, Hexaclorobenceno, Lindano. El uso propagado del DDT originó sus residuos en el ambiente y su propagación alrededor del mundo. En México hasta el año 1999 fue utilizado en gran escala durante las acciones de salud pública en el combate del paludismo. El plaguicida pp'DDT, especialmente su isómero op'DDT revela actividad estrogénica, mientras que su metabolito más persistente el pp'DDE posee actividad antiandrogénica^{14,15}. Aunque estos compuestos no presentan similitudes en la estructura química con las hormonas esteroideas naturales, son capaces de reaccionar con los receptores hormonales o bloquear los receptores androgénicos¹⁶. Se ha logrado un consenso relacionado con la capacidad estrogénica o antiandrogénica de los plaguicidas organoclorados, mientras que todavía existe discusión sobre su capacidad de influir en el desarrollo del cáncer mamario y en las alteraciones reproductoras masculinas.

El objetivo de este estudio fue determinar los niveles de plaguicidas organoclorados persistentes (el Hexaclorobenceno (HCB) el isómero beta de hexaclorociclohexano (β -HCH), el para, para' diclorodifenildicloroetano (pp'DDE), el isómero orto, para' diclorodifeniltricloroetano (op'DDT), el isómero para, para' diclorodifeniltricloroetano (pp'DDT) en lípidos séricos de madres de niños con testículos no descendidos (criptorquidia) y comparar los niveles con un grupo control de madres de niños con testículos descendidos.

Material y métodos

Diseño

Para lograr el objetivo planteado se estudiaron binomios de madres-hijos varones y se formaron dos grupos, que fue conformándose el mismo día en que ocurrían los nacimientos. El grupo de los casos fue constituido por recién nacidos con diagnóstico de criptorquidia (n=41). El grupo control (n=41) se conformó por niños con testículos descendidos. A las madres de ambos grupos de niños se invitó a participar en el estu-

dio. Una vez que aceptaron mediante la firma de la carta de consentimiento informado les fueron tomadas una muestra de sangre para determinar los niveles de plaguicidas organoclorados. Como se mencionó previamente, los controles fueron seleccionados en la misma fecha en que los casos nacieron. Para determinar si el niño presentaba o no criptorquidia, al nacimiento todos los recién nacidos fueron explorados por pediatra neonatólogo participante del proyecto. Todos los niños nacieron a término 40 ± 2 semanas de gestación, sin malformaciones congénitas o complicaciones que requirieran tratamiento en terapia intermedia intensiva. Todos los niños procedían de un Hospital General que da atención a la población del Puerto de Veracruz y áreas circunvecinas. Debido a que los plaguicidas organoclorados permanecen estables a través del tiempo, la toma de la muestra después del nacimiento del niño no modifica su concentración y puede considerarse que fue la exposición durante el embarazo.

Análisis de las muestras

Se obtuvieron aproximadamente 10 ml de sangre venosa mediante tubo vacutainer, las muestras fueron centrifugadas para obtener el suero a 2000 revoluciones por minuto y guardadas en refrigeración hasta su procesamiento. Se identificaron y cuantificaron 5 sustancias o metabolitos: (HCB), (β -HCH), (pp'DDE), (op'DDT) y (pp'DDT). Las muestras se analizaron por cromatografía de gases con detección por captura de electrones en un cromatógrafo de gases Varian modelo 3400 CX, mediante método analítico descrito por Waliszewski et al.¹⁷. Los límites de detección fueron para HCB 0.004 mgkg⁻¹, β -HCH 0.020 mgkg⁻¹, pp'DDE 0.002 mgkg⁻¹, op'DDT y pp'DDT 0.003 mgkg⁻¹. La cantidad de lípidos séricos se determinó colorimétricamente.

Análisis estadísticos

Los valores de plaguicida organoclorados en las muestras del grupo control y en el grupo con criptorquidias, se calcularon utilizando estadística básica como: medias y desviación estándar ($x \pm DE$), medianas y los rangos. Para calcular la variabilidad entre el grupo control y el grupo con criptorquidias y debido a que las concentraciones determinadas no poseen distribución normal, se aplicó la prueba Mann-Whitney para comparar la diferencia entre las medianas. Además, se calcularon las razones de momios (OR) para determinar la asociación entre los niveles de plaguicidas organoclorados en lípidos séricos y la criptorquidia. Los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa estadístico Minitab versión 12.

Resultados

Un total de 82 binomios madres-hijos fueron estudiados, 41 pares del grupo de los casos y 41 pares del grupo de los controles. Los niveles de plaguicidas organoclorados determinados en 41 muestras séricas de las madres de niños sin criptorquidia control y 41 muestras séricas de madres cuyos hijos presentaron criptorquidias se presentan en la Tabla 1. Se observa que existe tanto diferencia estadísticamente significativa en las medianas del para β -HCH y del pp'DDT. La fuente de exposición a los plaguicidas organoclorados, se identifica por el cociente de las concentraciones entre el plaguicida pp'DDT y su metabolito pp'DDE (DDT/DDE). Para el grupo control el valor calculado fue promedio de 0.148 ± 0.050 , mediana 0.121, 95%IC 0.096, 0.188 y el rango intercuartil 0.092. Para el grupo con estudiado con testículos no descendidos, los

Tabla 1. Mediana y rangos de las concentraciones de plaguicidas organoclorados en lípidos séricos (mg/kg) de muestras de sangre de madres de niños.

Plaguicidas	Casos de criptorquidia			Controles		
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo
HCB	0.174	0.026	0.640	0.134	0.031	0.383
β -HCH	0.192	0.025	0.536	0.263	0.094	0.889
pp'DDE	2.597	1.274	6.139	2.219	0.888	4.608
op'DDT	0.099	0.020	0.318	0.088	0.005	0.181
pp'DDT	0.464	0.186	1.277	0.269	0.057	0.838
Σ -DDT	3.193	1.622	7.262	2.840	1.221	5.392

*Prueba Mann Whitney; **Estadísticamente significativa.

valores fueron siguientes: promedio 0.189 ± 0.029 , mediana 0.186, 95%IC 0.170, 0.230, rango intercuartil 0.033. Calculando la diferencia entre ambos grupos, al aplicar la prueba t-Student se encontró las diferencias significativas ($p < 0.01$) entre los valores promedios y aplicando la prueba Mann-Whitney, se encontró las diferencias significativas entre las medianas ($p = 0.056$), (datos no mostrados en las tablas).

Para evaluar el riesgo de criptorquidias, se calculó la razón de momios para la relación de concentraciones pp'DDE/pp'DDT. Los momios en esta relación revelaron el valor promedio de 1.44 y IC95% (1.12, 1.75). Estos valores muestran una posible relación positiva entre las concentraciones del pp'DDE y el plaguicida pp'DDT en suero materno y presencia de criptorquidias en varones recién nacidos (Datos no mostrados en las tablas). La asociación cruda entre los niveles de pp'DDT y criptorquidia muestra en la Tabla 2 valores estadísticamente significativos con una OR de 1.79 e IC al 95% 1.34, 2.24.

Discusión

La criptorquidia consiste en la falta de descenso de uno o ambos testículos hacia el escroto. Se reserva para aquellos testículos que están localizados en cualquier lugar del trayecto normal y que no es posible hacerlos descender.

Se sugiere que la exposición materna a los xenoestrógenos ambientales como los plaguicidas organoclorados influye el desarrollo de los genitales masculinos en el útero. Estudios realizados en animales indican la posibilidad de acción de los xenoestrógenos en las malformaciones del tracto urogenital. Por otra parte, en estu-

dios clínicos se ha visto que algunos niños con malformaciones del tracto urogenital presentan defectos en el metabolismo de la testosterona o en los receptores de la testosterona.

Los plaguicidas organoclorados permanecen por mucho tiempo en el ambiente o en los depósitos lipídicos de los organismos. Por su propiedad lipofílica, se acumulan en la grasa y biomagnifican en la cadena alimenticia. De tal forma, que la exposición a estas sustancias a lo largo de la vida de una mujer determina el nivel acumulado en el cuerpo y, por su paso a través de la placenta, la exposición del feto desde el momento de su concepción¹⁷⁻¹⁹. Esto es importante para los estudios epidemiológicos ya que permite tomar muestras únicas durante el embarazo o posterior a él sin modificación importante para medir la potencial exposición durante el embarazo.

En los últimos 40 años, varios estudios indican el aumento de incidencia de anomalías genitourinarias en el hombre, tales como criptorquidias. Estas anomalías genitourinarias pueden relacionarse y tener un origen común en la embriogénesis. Ya que se ha dado el deterioro en un periodo relativamente corto, se sospecha como promotores de estas patologías a los agentes ambientales. Esta posibilidad se ve apoyada por el hecho de que algunos contaminantes ambientales poseen actividad estrogénica o antiandrogénica. Entre los contaminantes, los plaguicidas organoclorados pudieran causar este deterioro reproductivo. Los mecanismos de acción de estos compuestos no se conocen completamente, pero pueden tener una actividad antiandrogénica, modular los efectos de las enzimas que controlan el metabolismo de las hormonas sexuales, influir directamente en las glándulas productoras de hormonas o producir mecanismos de retroalimentación indirecta que afecta a los niveles de estrógenos. La mayor parte de exposición en la población general se da por inhalar sus vapores y por medio de la dieta, al consumir alimentos contaminados.

Los resultados del estudio indican la presencia de los residuos de plaguicidas organoclorados en lípidos séricos en las madres de ambos grupos. Debido a que la procedencia de las muestras fue aleatoria y que la distribución de los resultados del análisis no posee carácter normal, en la Tabla 1 se enlistaron los resultados de las medianas para compararlos entre el grupo control y el grupo con criptorquidias. Los valores (mgkg⁻¹ en base lipídica) indican concentraciones superiores de HCB (0.174 vs. 0.134), pp'DDE (2.597 vs. 2.219), op'DDT (0.099 vs. 0.088) y

Tabla 2. Razón de momios (OR) de exposición a los metabolitos de plaguicidas organoclorados y posibilidad de presentar criptorquidia.

Plaguicidas	OR	(95% IC)
HCB	1.17*	(1.08, 1.27)
β-HCH	0.93	(0.69, 1.16)
pp'DDE	1.10*	(1.05, 1.16)
op'DDT	1.28*	(1.14, 1.43)
pp'DDT	1.79*	(1.34, 2.24)
Σ-DDT	1.14*	(1.09, 1.19)

*Estadísticamente significativos.

pp'DDT (0.464 vs. 0.269) en el grupo de criptorquidias y del β -HCH (0.263 vs. 0.192) en el grupo control. En la Tabla 1 se muestran los resultados que se obtuvieron al probar si había diferencia en las concentraciones entre ambos grupos, al aplicar la prueba de comparación entre las medianas (Mann Whitney) el resultado reveló diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las concentraciones de β -HCH y el plaguicida pp'DDT determinadas en ambos grupos.

La asociación entre una exposición y un daño y su magnitud, se estipula calculando la razón de momios, cuyos resultados se muestran en la Tabla 2. Los momios de exposición para el plaguicida pp'DDT son mayores entre las madres de niños que padecen criptorquidia que entre las madres de niños con descenso testicular, esta asociación es estadísticamente significativa $OR = 1.79$ IC 95% (1.34, 2.24). Estos resultados soportan la hipótesis planteada, en el sentido de que sustancias con efectos antiandrogénicos pueden producir disrupción endocrina durante el desarrollo

manifestado en este caso como criptorquidias como ya ha sido demostrado en animales y empieza a confirmarse en humanos¹⁹⁻²¹.

Variabales como la edad y la escolaridad se probaron en modelos multivariados los cuales no mostraron ninguna asociación ni modificación de la medida de asociación probablemente por la poca variabilidad mostrada. Sin embargo consideramos que para futuros estudios deberán recopilarse mayor información sobre características sociodemográficas.

Considerando los riesgos a los que puede exponerse un niño con criptorquidia, incluyendo infertilidad, riesgo de exposición a agentes físicos (calor) y riesgo aumentado para cáncer ya que ha sido una de las patologías incluidas en el llamado síndrome de disgenesia testicular (SDT) vale la pena la profundización en este aspecto a través de programas de investigación acción que incluyan la vigilancia epidemiológica en poblaciones de riesgo y/o con antecedentes epidemiológicos de exposición.

Colaboradores

LPB Montes, S Waliszewski, M Hernández-Valero, L Sanín-Aguirre, RM Infanzón-Ruiz e AG Jañas participarán igualmente de todas las etapas del documento.

Agradecimientos

Este trabajo se desarrolló gracias a la contribución económica y de colaboración de los integrantes de la Red de Cuerpos Académicos Salud, Trabajo y Ambiente pertenecientes a la Universidad Veracruzana, Autónomas de los Estados de México y de Chihuahua y con la colaboración de la Universidad de Texas M. D. Anderson Cáncer Center.

Referencias

1. Giwreman A, Carlsen E, Keiding, Skakkebaek NE. Evidence for increasing incidence of abnormalities of the human testis: a Review. *Environ Health Perspect* 1993; 101(2):65-71.
2. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Male reproductive disorders and the role of endocrine disruption: advances in understanding and identification of areas for future research. *Pure and Applied Chemistry* 2003; 75:2023-2038.
3. Bhatia R, Shiau R, Petreas M, Weintraub JM, Farhang L, Eskenazi B. Organochlorine pesticides and male genital anomalies in the child health and development studies. *Environ Health Perspect* 2005; 113(2):220-224.
4. Damgaard IN, Skakkebaek NE, Toppari J, Virtanen HE, Shen H, Schramm KW, Petersen JH, Jensen TK, Main KM. Persistent pesticides in human breast milk and cryptorchidism. *Environ Health Perspect* 2006; 114(7):1133-1138.
5. Edwards TM, Moore BC, Guillette LJ, Jr. Reproductive dysgenesis in wildlife: a comparative view. *Int J Androl* 2006; 29(1):109-121.
6. Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect* 1995; 103(6):582-587.
7. Guillette LJ, Jr. Endocrine disrupting contaminants—beyond the dogma. *Environ Health Perspect* 2006; 114 Suppl 1:9-12.
8. Waliszewski SM, Carvajal O, Infanzón RM, Trujillo P. Xenoestrógenos ambientales y la salud. *IDEAS* 2004; 23:72-87.
9. Cheek AO, McLachlan JA. Environmental hormones and the male reproductive system. *J Androl* 1998; 19(1):5-10.
10. Greco TL, Duello TM, Gorski J. Estrogen receptors, estradiol, and diethylstilbestrol in early development: the mouse as a model for the study of estrogen receptors and estrogen sensitivity in embryonic development of male and female reproductive tracts. *Endocr Rev* 1993; 14(1):59-71.
11. Cavaría O. Criptorquidia. *Arch Pediatr Urug* 2001; 72(4):286-287.
12. Hardell L, Van Bavel B, Lindström G, Ericsson M, Carlberg M. In utero exposure to persistent organic pollutants in relation to testicular cancer risk. *Int J Androl* 2005; 29:228-234.
13. McLachlan JA, Arnold SE. Environmental estrogens. *Amer Sci* 1996; 84:452-461.
14. Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kempainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995; 375(6532):581-585.
15. Veeramachaneni DN, Palmer JS, Amann RP, Pau KY. Sequelae in male rabbits following developmental exposure to p,p'-DDT or a mixture of p,p'-DDT and vinclozolin: cryptorchidism, germ cell atypia, and sexual dysfunction. *Reprod Toxicol* 2007; 23(3):353-365.
16. Arnold SF, Collins BM, Robinson MK, Guillette LJ, McLachlan JA. Differential interaction of natural and synthetic estrogens with extracellular binding proteins in a yeast estrogen screen. *Steroids* 1996; 61:642-646.
17. Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzón RM, Siliceo J. Carry-over of persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus. *Salud Pública de México* 2000; 42(5):384-390.
18. Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzón RM, Silva CS, Siliceo J. Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of Veracruz, Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001; 40(3):432-438.
19. Brucker-Davis F, Wagner-Mahler K, Delattre I, Ducot B, Ferrari P, Bongain A, Kurzenne JY, Mas JC, Fénelon P. Cryptorchidism at birth in Nice area (France) is associated with higher prenatal exposure to PCBs and DDE, as assessed by colostrum concentrations. *Hum Reprod* 2008; 23(8):1708-1718.
20. Fernandez MF, Olmos B, Granada A, López-Espinosa MJ, Molina-Molina JM, Fernandez JM, Cruz M, Olea-Serrano F, Olea N. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals and prenatal risk factors for cryptorchidism and hypospadias: a nested case-control study. *Environ Health Perspect* 2007; 115 (Suppl) 1:8-14.
21. Mauduit C, Florin A, Amara S, Bozec A, Siddeek B, Cunha S, Meunier L, Selva J, Albert M, Vialard F, Bailly M, Benahmed M. Long-term effects of environmental endocrine disruptors on male fertility. *Gynecol Obstet Fertil* 2006; 34(10):978-984.

Artigo apresentado em 29/01/2008

Aprovado em 07/04/2008

Versão final apresentada em 29/10/2008