

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**  
**Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública**



**DETERMINANTES DE DDE EN TEJIDO ADIPOSO Y  
ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE DDE CON  
FACTORES REPRODUCTIVOS EN MUJERES**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR**

**PRESENTADA POR**

**María Inmaculada Sanz Gallardo**

Bajo la dirección de los doctores:  
José María Martín Moreno y José Ramón de Juanes Pardo

**Madrid, 2006**

- **ISBN: 978-84-669-2949-3**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DETERMINANTES DE DDE EN TEJIDO ADIPOSEO Y  
ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE DDE CON  
FACTORES REPRODUCTIVOS EN MUJERES**

**TESIS DOCTORAL**

**M<sup>a</sup> INMACULADA SANZ GALLARDO**

**MADRID, 2005**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DETERMINANTES DE DDE EN TEJIDO ADIPOSO Y  
ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE DDE CON  
FACTORES REPRODUCTIVOS EN MUJERES**

**AUTORA: M<sup>a</sup> INMACULADA SANZ GALLARDO**

**DIRECTOR: D. JOSÉ MARÍA MARTÍN MORENO**

**CODIRECTOR: D. JOSÉ RAMÓN DE JUANES PARDO**

**TESIS DOCTORAL**

**MADRID, 2005**

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a D. José María Martín Moreno, Catedrático de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Valencia, director de esta tesis doctoral y a D. José Ramón de Juanes Pardo, Profesor Titular de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad Complutense de Madrid y Jefe de Servicio de Medicina Preventiva del Hospital Universitario 12 de Octubre de Madrid, codirector de este trabajo de investigación, por su inestimable ayuda, orientación, dedicación, continuo ánimo y apoyo, que han hecho posible la realización de este estudio. Así como, por sus enseñanzas que han contribuido a mi formación en el campo de la Medicina Preventiva y Salud Pública.

Asimismo, he de señalar que el Dr. José María Martín Moreno junto con el Dr. Pieter van't Veer fueron los coinvestigadores principales de un proyecto europeo sobre DDE y cáncer de mama cofinanciado por la Comunidad Europea (EC DG-V "Europe Against Cancer" grant N° 2216) y el "Fondo de Investigaciones Sanitarias" (91E0575), así como a todos los investigadores que hicieron posible la realización de los análisis para llevar a cabo este estudio.

No puedo dejar de señalar mi gratitud a todas las personas del Departamento de Epidemiología y Bioestadística de la Escuela Nacional de Sanidad, durante los años 97-98, con los que compartí una experiencia académica, científica y humana que no olvidaré.

Por último, quiero aprovechar la oportunidad para agradecer a mis compañeros del Hospital Universitario 12 de Octubre su constante estímulo y ayuda.

A mi familia

## ÍNDICE

---

<b>ÍNDICE GENERAL</b>	Página
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1. Fundamentos de la legislación de base que regula el uso de plaguicidas.....	4
1.2. Clasificación de plaguicidas.....	15
1.3. Plaguicidas organoclorados.....	21
1.3.1. Clasificación de los plaguicidas organoclorados.....	22
1.3.2. Metabolismo.....	23
1.3.3. Indicadores de exposición.....	24
1.4. Diclorodifeniltricloroetano (DDT).....	25
1.4.1. Características del DDT y sus metabolitos.....	27
1.4.2. DDT y DDE en el medio ambiente.....	28
1.4.3. Vías de exposición en la población.....	32
1.4.4. Efectos sobre la salud.....	33
1.5. Estudio EURAMIC.....	37
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	38
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	40
3.1. Diseño del estudio.....	41
3.2. Sujetos del estudio.....	41
3.3. Recogida de datos.....	43
3.4. Análisis de laboratorio.....	46

---

3.5. Variables del estudio.....	48
3.5.1. Variables del sujeto.....	48
3.5.2. Variables de laboratorio.....	48
3.5.3. Variables relacionadas con factores reproductivos y hormonales.....	50
3.6. Análisis estadístico.....	51
3.6.1. Manejo de datos.....	51
3.6.2. Análisis estadístico.....	51
3.7. Control de calidad.....	53
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
4.1. Determinantes de la concentración de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas.....	55
4.1.1. Descripción de las participantes del estudio.....	55
4.1.2. Niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas.....	58
4.1.3. Análisis de la asociación entre los niveles de DDE y sus posibles determinantes.....	60
4.2. Evaluación de la asociación entre los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas de la población de estudio y factores reproductivos.....	80
4.2.1. Edad de la menopausia y niveles de DDE.....	80
4.2.2. Número de hijos y niveles de DDE.....	91



---

<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	98
5.1. Niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas.....	99
5.2. Determinantes de la concentración de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas.....	106
5.2.1. Ácidos grasos.....	106
5.2.2. Antioxidantes o vitaminas.....	111
5.2.3. Otros determinantes.....	113
5.2.4. Limitaciones y aportaciones del estudio en relación a los determinantes de la concentración de DDE.....	114
5.3. Evaluación de la asociación entre los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas de la población de estudio y factores reproductivos.....	117
5.3.1. Edad de la menopausia y niveles de DDE.....	117
5.3.1.1. Niveles de DDE.....	118
5.3.1.2. Hábito de fumar.....	121
5.3.1.3. Paridad.....	123
5.3.1.4. Otros.....	123
5.3.1.5. Limitaciones y aportaciones del estudio relativo al examen de edad de menopausia y niveles de DDE.....	124
5.3.2. Número de hijos y niveles de DDE.....	126
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	128

7. <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	132
8. <b>ANEXOS</b> .....	160
Anexo I: Cuestionario sobre hábito tabáquico.....	161
Anexo II: Cuestionario sobre historia reproductiva.....	163
Anexo III: Medidas antropométricas.....	165

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1.** Clasificación de biocidas

**Tabla 2.** Clasificación de los plaguicidas por su peligrosidad

**Tabla 3.** Características de plaguicidas organoclorados de importancia en salud pública

**Tabla 4.** Fuente y modo de reclutamiento de los sujetos de estudio

**Tabla 5.** Nomenclatura de los ácidos grasos analizados

**Tabla 6.** Descripción global y por centros de las participantes del estudio

**Tabla 7.** Concentración de DDE ( $\mu\text{g/g}$ ) global y por centros en tejido adiposo

**Tabla 8.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}\text{DDE}$  y ácidos grasos en tejido adiposo

**Tabla 9.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}\text{DDE}$  y antioxidantes en tejido adiposo

**Tabla 10.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}\text{DDE}$ , ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Berlín (N = 51)

**Tabla 11.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}\text{DDE}$ , ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Zeist (N = 52)

**Tabla 12.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}\text{DDE}$ , ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Coleraine (N = 94)

**Tabla 13.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Zürich (N = 68)

**Tabla 14.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Málaga (N = 63)

**Tabla 15.** Regresión lineal múltiple entre  $\log_{10}$ DDE y los principales determinantes en tejido adiposo en el estudio EURAMIC

**Tabla 16.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y ácidos grasos en tejido adiposo excluyendo a las participantes de Málaga

**Tabla 17.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y antioxidantes en tejido adiposo excluyendo a las participantes de Málaga

**Tabla 18.** Descripción global y por centros de las participantes en el estudio de la asociación entre DDE y menopausia

**Tabla 19.** Medias de edad de la menopausia en cada tercil de concentración de DDE en tejido adiposo y  $p$  de tendencia

**Tabla 20.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales entre  $\log_{10}$ DDE y edad de la menopausia global y por centros

**Tabla 21.** Medias de edad de la menopausia ajustadas por edad y centro para las distintas categorías de variables reproductivas y de estilo de vida

**Tabla 22.** Análisis de regresión lineal múltiple entre edad de la menopausia y variables predictoras en el estudio EURAMIC

**Tabla 23.** Descripción global y por centros de las participantes en el estudio de la asociación entre DDE y número de hijos.

**Tabla 24.** Número medio de hijos en cada tercil de la concentración de DDE en tejido adiposo y  $p$  de tendencia

**Tabla 25.** Coeficientes de correlación de Pearson y parciales entre  $\log_{10}$ DDE y número de hijos globales y por centros

**Tabla 26.** Regresión lineal múltiple entre  $\log_{10}$ DDE y número de hijos en el estudio EURAMIC

**Tabla 27.** Descripción de estudios internacionales que han medido niveles de DDE en tejido adiposo humano

**Tabla 28.** Descripción de estudios nacionales que han medido niveles de DDE en tejido adiposo humano

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.** Estructura química de los diclorodifenilcloroetanos

**Figura 2.** Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y ácido araquídico en tejido adiposo

**Figura 3.** Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y retinol en tejido adiposo

**Figura 4.** Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y ácido docosahexaenoico en tejido adiposo

**Figura 5a.** Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y el ácido graso  $\gamma$ -linolénico

**Figura 5b.** Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y el ácido graso  $\gamma$ -linolénico después de excluir el valor extremo

**Figura 6a.** Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y  $\alpha$ -tocoferol

**Figura 6b.** Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y  $\alpha$ -tocoferol después de excluir el valor extremo

**Figura 7.** Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y edad de la menopausia

**Figura 8.** Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y número de hijos

## ABREVIATURAS UTILIZADAS

***p,p'*- DDT:** *p,p'*-diclorodifeniltricloroetano, 1,1'-(2,2,2-tricloroetilideno)-bis[4-clorobenceno]

***p,p'*- DDE:** *p,p'*- diclorodifenildicloroetileno, 1,1'-(2,2-dicloroetenilideno)-bis[4-clorobenceno]

***o,p'*-DDT:** *o,p'*-diclorodifeniltricloroetano, 1-cloro-2-[2,2,2-tricloro-1-(4-clorofenil)etil] benceno

**DDD:** diclorodifenildicloroetano

**EURAMIC:** EUropean study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Cancer of the breast

**SAS:** Statistical Analysis System

**IC:** Intervalo de confianza

**DE:** Desviación estándar

**EE:** Error estandar

**IMC:** índice de masa corporal

**RD:** Real Decreto

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**EPA:** Environmental Protection Agency

**ONU:** Organización de las Naciones Unidas

**COPs:** Compuestos Orgánicos Persistentes

**AG:** ácidos grasos

**AGS:** ácidos grasos saturados

**AGM:** ácidos grasos monoinsaturados

**AGP:** ácidos grasos poliinsaturados

**ICC:** índice cintura-cadera

**ACO:** anticonceptivos orales

**NSE:** nivel socioeconómico



## **1. INTRODUCCIÓN**

Los plaguicidas, también denominados pesticidas, incluyen una gran variedad de sustancias o productos químicos que eliminan organismos nocivos y que difieren en cuanto a su aplicación, composición, modo de acción, metabolismo y eliminación.(1) Idealmente, estas sustancias deberían ser tóxicas para cada una de las especies causantes de plagas, e inocuas para el resto de organismos. Sin embargo, la mayoría de los plaguicidas no son completamente selectivos, por lo que representan un riesgo para el hombre y gran número de especies.(1;2)

La exposición a plaguicidas puede afectar a gran parte de la población, incluyendo trabajadores y población general que puede estar expuesta a través de su uso doméstico, agrícola, en salud pública y por el consumo de agua y comida contaminada.(2)

La utilización de los plaguicidas químicos comenzó en el siglo pasado cuando se desarrollaron los sulfuros que se emplearon como fungicidas. Posteriormente, se introdujeron los compuestos arsenicales como insecticidas en la agricultura. Ambos tipos de sustancias presentaban una gran toxicidad lo que limitó su uso generalizado. En 1940 aparecieron los primeros insecticidas organoclorados entre los que se encuentra como principal representante el diclorodifeniltricloroetano (*DDT*).<sup>(3)</sup>

Al principio, la persistencia de estos productos organoclorados se consideró beneficiosa porque el efecto biocida se prolongaba durante más tiempo en el lugar de aplicación. Sin embargo, posteriormente se valoró como perjudicial la persistencia medioambiental ya que resultaban en un aumento de los efectos biológicos indeseables.(4)

Los principales plaguicidas utilizados en la actualidad en los países desarrollados son los organofosforados, carbamatos y piretroides. Estos compuestos químicos presentan una vida media más corta que los organoclorados y no se acumulan en tejido adiposo.(3)

## **1.1. Fundamentos de la legislación de base que regula el uso de plaguicidas**

El punto de partida de la legislación vigente actual que regula estos compuestos químicos es el que supone el Real Decreto (*RD*) publicado en 1983 (5), por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas, estableciendo como objeto de la norma la ordenación técnico-sanitaria de estos productos en cuanto concierne a la salud pública, así como la fijación de los requisitos para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas, y el establecimiento de las bases para la fijación de sus límites máximos de residuos, todo ello con el fin de prevenir accidentes e intoxicaciones y evitar o limitar los peligros asociados a su uso directo e indirecto.

El RD anteriormente citado, define plaguicidas como “las sustancias o ingredientes activos, así como las formulaciones o preparados que contengan uno o varios de ellos, destinados a cualquiera de los fines siguientes: combatir o prevenir la acción de agentes nocivos para los vegetales y productos vegetales, favorecer o regular la producción vegetal, con excepción de los nutrientes y los destinados a la enmienda de suelos, conservar los productos vegetales, incluida la protección de las maderas, destruir los vegetales indeseables o prevenir su crecimiento y hacer inofensivos, destruir o prevenir la acción de otros organismos nocivos o indeseables distintos de los que atacan a los vegetales”.

Asimismo, desarrolla las definiciones de plaguicidas según el uso para el que son empleados. Así, entiende por:

“Plaguicidas de uso fitosanitario son los destinados a su utilización en el ámbito de la sanidad vegetal, así como aquellos otros de análoga naturaleza destinados a combatir malezas u otros organismos indeseables en áreas no cultivadas.

Plaguicidas de uso ganadero son los destinados a su utilización en el entorno de los animales o en las actividades estrechamente relacionadas con su explotación.

Plaguicidas para uso en la industria alimentaria son los destinados a tratamientos externos de transformación de vegetales, de productos de origen animal y de sus envases, así como los destinados al tratamiento de locales, instalaciones o maquinaria relacionados con la industria alimentaria.

Plaguicidas de uso ambiental son aquellos destinados a operaciones de desinfección, desinsectación y desratización en locales públicos o privados, establecimientos fijos o móviles, medios de transporte y sus instalaciones.

Plaguicidas para uso en higiene personal son aquellos preparados útiles para la aplicación directa sobre el hombre.

Plaguicidas para uso doméstico son cualquiera de los definidos en los anteriores epígrafes, autorizados expresamente para que puedan ser aplicados por personas no especialmente cualificadas en viviendas y otros locales habitados”.

Posteriormente, los plaguicidas no agrícolas son regulados por la Directiva 98/8/CE(6), relativa a la comercialización de biocidas, que armoniza a nivel europeo la legislación sobre estos productos. Los biocidas son necesarios para el control de los organismos perjudiciales para la salud humana y de los animales, y para el control de los organismos dañinos para los productos naturales o manufacturados.(7)

La Directiva 98/8/CE se incorpora a nuestro derecho interno mediante el RD 1054/2002,(7) por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas. En este RD, se entiende por “biocidas aquellas sustancias activas y preparados que contienen una o más sustancias activas, presentados en la forma en que son suministrados al usuario, destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier organismo nocivo por medios químicos o biológicos”.

Los biocidas recogidos en este RD se pueden agrupar en:(7)

- GRUPO PRINCIPAL 1: Desinfectantes y biocidas generales
- GRUPO PRINCIPAL 2: Conservantes
- GRUPO PRINCIPAL 3: Plaguicidas
- GRUPO PRINCIPAL 4: Otros biocidas

GRUPO PRINCIPAL 1: Desinfectantes y biocidas generales

“Estos tipos de productos excluyen los productos de limpieza que no persiguen un efecto biocida, incluidos los detergentes líquidos y en polvo y productos similares.

*Tipo de producto 1:* Biocidas para la higiene humana: Los productos de este grupo son los biocidas empleados con fines de higiene humana.

*Tipo de producto 2:* Desinfectantes utilizados en los ámbitos de la vida privada y de la salud pública y otros biocidas: Productos empleados para la desinfección del aire, superficies, materiales, equipos y muebles que no se utilicen en contacto directo con alimentos o piensos en zonas de la esfera privada, pública e industrial, incluidos los hospitales, así como los productos empleados como alguicidas.

Las zonas de utilización incluyen, entre otras, las piscinas, acuarios, aguas de baño y otras; sistemas de aire acondicionado; paredes y suelos de centros sanitarios y otras instituciones; retretes químicos, aguas residuales, desechos de hospitales, tierra u otros sustratos (en las áreas de juegos).

*Tipo de producto 3:* Biocidas para la higiene veterinaria: Los productos de este grupo son los biocidas empleados con fines de higiene veterinaria, incluidos los productos empleados en las zonas en que se alojan, mantienen o transportan animales.

*Tipo de producto 4:* Desinfectantes para las superficies que están en contacto con alimentos y piensos: Productos empleados en la desinfección de equipos, recipientes, utensilios para consumo, superficies o tuberías relacionados con la producción, transporte, almacenamiento o consumo de alimentos, piensos o bebidas (incluida el agua potable) para seres humanos o animales.

*Tipo de producto 5:* Desinfectantes para agua potable: Productos empleados para la desinfección del agua potable (tanto para seres humanos como para animales).



## GRUPO PRINCIPAL 2: Conservantes

*Tipo de producto 6:* Conservantes para productos envasados: Productos para la conservación de productos elaborados que no sean alimentos o piensos, dentro de recipientes, mediante el control del deterioro microbiano con el fin de prolongar su vida útil.

*Tipo de producto 7:* Conservantes para películas: Productos empleados para la conservación de películas o recubrimientos mediante el control del deterioro microbiano con el fin de proteger las propiedades iniciales de la superficie de los materiales u objetos como pinturas, plásticos, selladores, adhesivos murales, cubiertas, papeles, obras de arte.

*Tipo de producto 8:* Protectores para maderas: Productos empleados para la protección de la madera, desde la fase del aserradero inclusive, o los productos derivados de la madera, mediante el control de los organismos que destruyen o alteran la madera.

Se incluyen en este tipo de productos tanto los de carácter preventivo como curativo.

*Tipo de producto 9:* Protectores de fibras, cuero, caucho y materiales polimerizados: Productos empleados para la conservación de materiales fibrosos o polimerizados, como los productos de cuero, caucho, papel o textiles y la goma mediante el control del deterioro microbiano.

*Tipo de producto 10:* Protectores de mampostería: Productos empleados para la conservación y tratamiento reparador de los materiales de mampostería u otros materiales de construcción distintos de la madera mediante el control del deterioro microbiano y la afectación por algas.

*Tipo de producto 11:* Protectores para líquidos utilizados en sistemas de refrigeración y en procesos industriales: Productos empleados para la conservación del agua u otros líquidos utilizados en sistemas de refrigeración y de elaboración industrial mediante el control de los organismos nocivos como microbios, algas y moluscos.

No se incluyen en este tipo de productos los empleados para la conservación del agua potable.

*Tipo de producto 12:* Productos antimoho: Productos empleados para la prevención o el control de la proliferación de mohos sobre los materiales, equipos y estructuras utilizados en procesos industriales, por ejemplo sobre la madera y pulpa de papel, estratos de arena porosa en la extracción de petróleo.

*Tipo de producto 13:* Protectores de líquidos de metalistería: Productos empleados para la conservación de los líquidos de metalistería mediante el control del deterioro microbiano.

### GRUPO PRINCIPAL 3: Plaguicidas

*Tipo de producto 14:* Rodenticidas: Productos empleados para el control de los ratones, ratas u otros roedores.

*Tipo de producto 15:* Avicidas: Productos empleados para el control de las aves.

*Tipo de producto 16:* Molusquicidas: Productos empleados para el control de los moluscos.

*Tipo de producto 17:* Piscicidas: Productos empleados para el control de los peces; se excluyen de estos productos los empleados para tratar las enfermedades de los peces.

*Tipo de producto 18:* Insecticidas, acaricidas y productos para controlar otros artrópodos: Productos empleados para el control de los artrópodos (insectos, arácnidos, crustáceos, etc.).

*Tipo de producto 19:* Repelentes y atrayentes: Productos empleados para el control de los organismos nocivos (invertebrados como las pulgas; vertebrados como las aves) mediante repulsión o atracción, incluidos los empleados, directa o indirectamente, para la higiene veterinaria o humana.

#### GRUPO PRINCIPAL 4: Otros biocidas

*Tipo de producto 20:* Conservantes para alimentos o piensos: Productos empleados para la conservación de alimentos o de piensos mediante el control de los organismos nocivos.

*Tipo de producto 21:* Productos antiincrustantes: Productos empleados para el control de la fijación y crecimiento de organismos incrustantes (microbios o formas superiores de especies animales o vegetales) en barcos, equipos de acuicultura u otras estructuras acuáticas.

*Tipo de producto 22:* Líquidos para embalsamamiento y taxidermia: Productos empleados para la desinfección y conservación de cadáveres animales o humanos o de parte de los mismos.

*Tipo de producto 23:* Control de otros vertebrados: Productos empleados para el control de los parásitos”.

A continuación y en la tabla 1 se desarrolla de forma sistematizada la clasificación de los grupos principales de biocidas.

---

**Tabla 1. Clasificación de biocidas**


---

<b>Grupo principal</b>	<b>Tipo de producto</b>
------------------------	-------------------------

---

**1. Desinfectantes y biocidas generales**

1. Biocidas para la higiene humana
2. Desinfectantes utilizados en los ámbitos de la vida privada y de la salud pública y otros biocidas
3. Biocidas para la higiene veterinaria
4. Desinfectantes para las superficies que están en contacto con alimentos y piensos
5. Desinfectantes para agua potable

**2. Conservantes**

6. Conservantes para productos envasados
7. Conservantes para películas
8. Protectores para madera
9. Protectores de fibras, cuero, caucho y materiales polimerizados
10. Protectores de mampostería
11. Protectores para líquidos utilizados en sistemas de refrigeración y en procesos industriales
12. Productos antimoho
13. Protectores de líquidos de metalistería

**3. Plaguicidas**

14. Rodenticidas
15. Avicidas
16. Molusquicidas
17. Piscicidas
18. Insecticidas, acaricidas y productos para controlar otros artrópodos
19. Repelentes y atrayentes

**4. Otros biocidas**

20. Conservantes para alimentos o piensos
  21. Productos antiincrustantes
  22. Líquidos para embalsamamiento y taxidermia
  23. Control de otros vertebrados
- 

Modificado de: Ministerio de Sanidad y Consumo 2001(8)

## 1.2. Clasificación de plaguicidas

Desde el punto de vista funcional, y complementariamente a lo ya expuesto, los plaguicidas se pueden clasificar de diversas formas. Las categorías no siempre son excluyentes y se pueden solapar. Una única sustancia activa puede controlar una amplia variedad de plagas, tener diferentes modos de acción y por tanto ser clasificada de formas diferentes. Se pueden emplear las siguientes clasificaciones según:(9)

- Su aplicación o fines
- Su modo de acción
- Su clasificación química
- Sus efectos sobre la salud humana

### a) Según su aplicación o fines

Dependiendo del tipo de plaga contra la que actúan: Insecticidas (artrópodos), rodenticidas o múridos (roedores), fungicidas o anticriptogámicos (hongos), herbicidas (hierbas parásitas), ahuyentadores o repelentes (artrópodos o roedores), molusquicidas o helicidas (caracoles y babosas), nematocidas (gusanos), acaricidas (ácaros), conservadores de la madera (termitas y polillas) y conservantes y abrillantadores de fruta.(10)

b) Según su modo de acción

Se clasifican según el mecanismo utilizado para destruir o controlar las plagas. Así, por ejemplo, los insecticidas químicos se podrían clasificar en: asfixiantes (tratan de impedir que llegue al artrópodo el aire necesario para su respiración), fumigantes o tóxicos respiratorios, estomacales y de contacto (penetran a través de la epicutícula de los insectos, por su liposolubilidad, y llegan a los órganos nerviosos originando parálisis y muerte del insecto).(1)

c) Según su clasificación química

Los plaguicidas se pueden clasificar en base a su estructura y características químicas en los siguientes grupos:

Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos, Piretroides, Derivados bipiridílicos, Clorofenoxiácidos, Cloronitrofenoles y Organomercuriales, Compuestos orgánicos del estaño, Tiocarbamatos, Ditiocarbamatos, y Otros como: bromuro de metilo, fosfamina, ácido cianhídrico, sulfato de talio, fluoracetato sódico, warfarina, arsenito sódico, criolita.(11)



d) Según sus efectos sobre la salud humana

La clasificación de los preparados peligrosos se basa en las definiciones de las categorías de peligro que figuran en el RD 255/2003.(12) por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos. En el ámbito de esta normativa se incluyen los biocidas y los productos fitosanitarios.

Los principios generales de clasificación y etiquetado de los preparados peligrosos se aplican según los criterios definidos en el Anexo VI del Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas, aprobado por el RD 363/1995,(13) y modificado por la Orden PRE/2317/2002.(14)

La legislación anteriormente citada establece unos índices de peligrosidad de sustancias y preparados en función de sus propiedades físicoquímicas, toxicológicas (efectos sobre la salud) y sobre el medio ambiente. A continuación se incluyen las posibles denominaciones según su diferente grado de peligrosidad, atendiendo a sus efectos sobre la salud. (12;14)

“Muy tóxicos: las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea en muy pequeña cantidad, pueden provocar la muerte o efectos agudos o crónicos para la salud.

Tóxicos: las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea en pequeñas cantidades, provocan la muerte o efectos agudos o crónicos para la salud.

Nocivos: las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, pueden provocar la muerte o efectos agudos o crónicos para la salud.

Corrosivos: las sustancias y preparados que, en contacto con tejidos vivos, pueden ejercer una acción destructiva de los mismos.

Irritantes: las sustancias y preparados no corrosivos que, por contacto breve, prolongado o repetido con la piel o las mucosas, pueden provocar una reacción inflamatoria.

Sensibilizantes: las sustancias y preparados que, por inhalación o penetración cutánea, pueden ocasionar una reacción de hipersensibilización, de forma que una exposición posterior a esa sustancia o preparado dé lugar a efectos nocivos característicos.

Carcinógenos: las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, pueden producir cáncer o aumentar su frecuencia.

Mutagénicos: las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, pueden producir defectos genéticos hereditarios o aumentar su frecuencia.

Tóxicos para la reproducción: las sustancias y preparados que, por inhalación, ingestión o penetración cutánea, pueden producir efectos nocivos no hereditarios en la descendencia, o aumentar la frecuencia de éstos, o afectar de forma negativa a la función o a la capacidad reproductora masculina o femenina”.

Organismos internacionales como la *Organización Mundial de la Salud (OMS)* recomienda una clasificación de plaguicidas por su peligrosidad, basándose en criterios de toxicidad aguda oral y dérmica en la rata(15) (tabla 2).

**Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas por su peligrosidad(15)**

Clase	DL <sub>50</sub> (mg/kg de peso)			
	Vía oral		Vía dérmica	
	Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Ia Extremadamente peligrosos	≤ 5	≤ 20	≤ 10	≤ 40
Ib Altamente peligrosos	5-50	20-200	10-100	40-400
II Moderadamente peligrosos	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III Ligeramente peligroso	> 500	> 2000	> 1000	> 4000

DL<sub>50</sub> es una estimación estadística del número de mg de tóxico por kg de peso corporal necesarios para matar al 50% de una gran población de animales de laboratorio

A continuación, se expondrán las principales características de los plaguicidas organoclorados, grupo químico al que pertenece el diclorodifeniltricloroetano (*DDT*), y a cuyo principal metabolito el diclorodifenildicloroetileno (*DDE*) hace referencia esta tesis.

### 1.3. Plaguicidas organoclorados

Se trata de compuestos químicos que empezaron a utilizarse ampliamente en los años 40, tanto en los tratamientos agrícolas como en el control de plagas transmitidas por insectos portadores. Sin embargo, su uso se empezó a cuestionar a partir de la publicación del libro *Silent Spring* de Rachel Carson en 1962, en el que se planteaba su persistencia en el medio ambiente y su toxicidad en humanos y animales. A pesar de que se prohibieron muchos de sus usos en los países occidentales durante los años 70 y 80, todavía se siguen utilizando en otros países en vías de desarrollo.(16-18)

Estos productos son resistentes a la degradación, lipofílicos, tienden a bioacumularse, encontrándose con frecuencia a bajos niveles en los tejidos humanos y son tóxicos. Se ha demostrado que muchos organoclorados son carcinógenos en animales de experimentación.(19) Su carcinogenicidad en humanos no está tan clara,(20) aunque sí se han constatado sus efectos sobre el sistema endocrino del hombre y de los animales.(17)

Debido a que son solubles en grasa, estos compuestos químicos se encuentran en mayores concentraciones en los alimentos con un alto contenido en material graso. El consumo de alimentos con grasas que pueden estar contaminadas con plaguicidas organoclorados (ej: leche y productos lácteos contaminados, pescado y ballenas) causa una mayor exposición a estos compuestos químicos. Los niños se pueden ver expuestos mediante el consumo de leche materna y en el útero por el paso de estas sustancias a través de la placenta.(16)

### **1.3.1. Clasificación de los plaguicidas organoclorados**

Los plaguicidas organoclorados son eficaces contra una gran variedad de insectos. Estos compuestos constituyen un tipo único de plaguicidas debido a su estructura cíclica, a su número de átomos de cloro y a su baja volatilidad. Pueden clasificarse en cuatro categorías: diclorodifeniletanos, ciclodienos, bencenos clorados y ciclohexanos.(16) Algunos de los plaguicidas organoclorados de importancia en salud pública se presentan en la tabla 3.(16;17)

**Tabla 3. Características de plaguicidas organoclorados de importancia en salud pública**

Categoría	Plaguicida	Disruptor Endocrino	Carcinógeno en animales
<b>Diclorodifeniletanos</b>			
	DDT: diclorodifeniltricloroetano	+	+
	o,p'-DDT: o,p'-diclorodifeniltricloroetano	+	
	p,p'-DDT: p,p'-diclorodifeniltricloroetano	+	
	p,p'-DDE: p,p'-diclorodifenildicloroetileno	+	
	Metoxicloro	+	±
<b>Ciclohexanos</b>			
	Hexaclorociclohexanos: isómeros β-HCH y γ-HCH (lindano)		±
<b>Ciclodienos</b>			
	Endrín		I
	Endosulfán	+	
	Aldrín		±
	Dieldrín	+	±
	Heptacloro		+
	Clordano		+
	Toxafeno	+	
<b>Bencenos clorados</b>			
	Hexaclorobenceno		+
<b>Otros insecticidas</b>			
	Mirex		+

Modificado de Longnecker (16;17)

Disruptor endocrino significa actividad estrogénica, antiestrogénica, o antiandrogénica. La carcinogenicidad en modelos animales: +: evidencia suficiente de carcinogenicidad; ±: evidencia limitada de carcinogenicidad; I: datos insuficientes. En blanco: no datos disponibles.

### 1.3.2. Metabolismo

Después de su absorción la mayoría de los compuestos organoclorados se distribuyen rápidamente a los tejidos con alto contenido en grasa, y tiene lugar un continuo intercambio entre la sangre y los tejidos. Los plaguicidas se acumulan en los tejidos y después de repetidas exposiciones su concentración se estabiliza. Alcanzándose un equilibrio entre el consumo diario de

organoclorados y su excreción. Los que son metabolizados más lentamente muestran la mayor tasa de acumulación y persisten en los tejidos durante largos períodos de tiempo.(2;21)

### **1.3.3. Indicadores de exposición**

La exposición a plaguicidas organoclorados se ha investigado en sujetos expuestos ocupacionalmente y en la población general midiendo compuestos intactos y metabolitos en sangre, orina, tejido adiposo y leche humana.

La determinación de los compuestos organoclorados o de sus metabolitos en sangre o suero es un valioso método para monitorizar las exposiciones a corto y largo plazo a estos plaguicidas.(2) Sin embargo, es más probable que los resultados se encuentren afectados por alteraciones en la dieta o de los mecanismos de transporte.(22)

La determinación de la concentración de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo ha sido realizada en diferentes estudios, principalmente en sujetos no ocupacionalmente expuestos. Los plaguicidas hallados con más frecuencia en el tejido adiposo de la población general son el DDT, dieldrín y heptacloro.(2) Estas medidas se han utilizado para determinar la carga corporal de los plaguicidas más persistentes, refleja el consumo dietético a largo plazo y es un depósito bastante estable de diferentes AG y sustancias como las vitaminas



solubles en grasa, por lo que constituyen una buena medida para evaluar exposiciones relacionadas con la dieta.(22)

La leche representa una importante vía de excreción para la mayoría de estos plaguicidas; por lo que la concentración en la leche humana se ha medido para estimar el consumo diario de los niños, sobre todo en los países donde se han usado estos plaguicidas en grandes cantidades para la agricultura y en salud pública.(23-25) El DDT y su principal metabolito el DDE, hexaclorobenceno, hexaclorociclohexano, dieldrín y heptacloro son los plaguicidas detectados con mayor frecuencia en la leche humana.(2)

#### **1.4. Diclorodifeniltricloroetano (DDT)**

El DDT fue sintetizado por Zeidler en 1874. Sin embargo, sus propiedades como insecticida no fueron descubiertas hasta 1939 por el químico suizo Paul Müller. Su producción a escala industrial comenzó en 1943. El bajo precio de este producto contribuyó a su difusión mundial. Inicialmente, se utilizó en la Segunda Guerra Mundial para proteger personal y zonas militares, contra el paludismo, el tifus exantemático y otras enfermedades transmitidas por insectos. Su empleo profuso en la agricultura comenzó en 1946. En los años 60 se utilizaban anualmente en el mundo cerca de 400.000 toneladas de DDT.(21;26)

En los países occidentales, el DDT fue utilizado ampliamente como insecticida en aplicaciones agrícolas y no agrícolas hasta su prohibición en los años 70. Actualmente, se usa todavía en algunos países para el control de enfermedades transmitidas por vectores, como la malaria.(27)

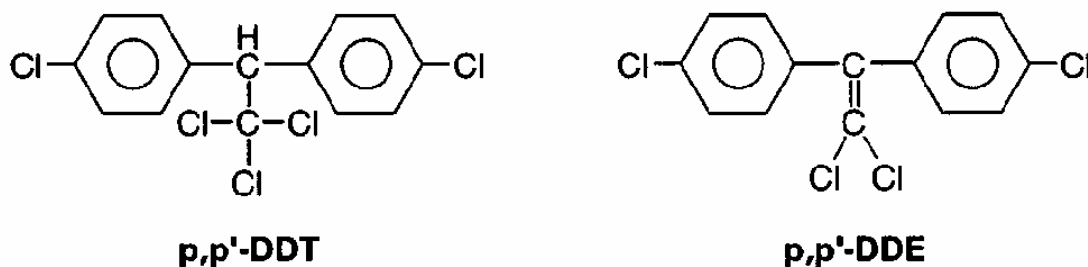
Suecia fue el primer país en prohibir su utilización en 1970.(19) Posteriormente, otros países prohibieron la mayoría de sus usos en 1972 (ej: EEUU, Alemania)(18) o poco después a causa de su impacto ambiental.(26)

En España se establecieron restricciones al empleo de productos fitosanitarios que contuvieran DDT en determinados cultivos, en 1971.(28) Posteriormente, en 1975 se prohibió la venta y utilización en aplicaciones agrícolas y forestales de todos los productos fitosanitarios en cuya composición apareciera el DDT y entró en vigor en 1977.(29) Finalmente, en 1994 se prohibió la comercialización y utilización de plaguicidas de uso ambiental que contuvieran determinados ingredientes activos peligrosos, entre ellos el DDT.(30)

A pesar de la entrada en vigor de la legislación citada anteriormente, algunos autores plantean dudas sobre si realmente cesó su utilización en esas fechas. Además, el DDT se sigue usando para fabricar productos como el herbicida dicofol. Por otra parte, la importación de productos de otros países que pudieran estar utilizando estos pesticidas hace que se pueda producir exposición a los mismos en los países occidentales.(31)

### 1.4.1. Características del DDT y sus metabolitos

El preparado comercial de DDT está formado por catorce compuestos químicos. El ingrediente activo, *p,p'*-DDT, representa un 65-80% del preparado. Otros componentes son el producto casi inactivo, *o,p'*-DDT (15-21%), trazas de *o,o'*-DDT y también puede contener DDE y diclorodifenildicloroetano (*DDD*) como contaminantes. Además estos dos últimos, se pueden obtener como productos de la degradación del DDT. Todos ellos son sólidos blancos cristalinos, sin olor, ni sabor.(27) En la figura 1 se muestra la estructura química de los diclorodifenilcloroetanos.(17)



**Figura 1.** Estructura química de los diclorodifenilcloroetanos.(17)

El desarrollo de esta tesis se centra en los isómeros *p,p'*-DDT y principalmente en su metabolito más importante, el *p,p'*-DDE, a partir de este momento se hará referencia a ellos como DDT y DDE, respectivamente.

#### **1.4.2. DDT y DDE en el medio ambiente**

El DDT se introdujo en el ambiente durante su producción y uso masivo como plaguicida antes de su prohibición en la mayor parte del mundo; pero continúa distribuyéndose en el ambiente, por su actual empleo en algunos países para el control de enfermedades transmitidas por insectos y a partir de los residuos que se generaron durante su utilización en el pasado.(27)

##### *Efecto sobre la atmósfera*

El DDT entra en la atmósfera a consecuencia de su utilización como plaguicida y por la volatilización de los residuos del suelo y el agua. Este compuesto se puede transportar a grandes distancias a través del aire desde las regiones más cálidas a las más frías por ciclos repetidos de volatilización desde el suelo y superficies acuáticas seguidas por deposición sobre las superficies. Este transporte resulta en una amplia dispersión mundial del DDT y sus metabolitos incluso a áreas remotas como las regiones Árticas o Antárticas.(27;32;33)

La mitad de DDT y DDE que existe en el aire se ha estimado que se degrada en 2 días por la luz solar. Sin embargo, la vida media estimada es demasiado corta para explicar la capacidad de estos compuestos para transportarse a largas distancias.(27)

#### *Efecto sobre el agua*

En el ambiente acuático, el DDT puede volatilizarse, y debido a su baja solubilidad en agua, depositarse en los sedimentos o en partículas en suspensión. Es consumido por pequeños organismos y peces y se acumula en el tejido adiposo de peces y mamíferos marinos. Un estudio encontró que el DDT se acumula a más altas concentraciones en los peces grasos que ocupan el nivel más alto de la cadena trófica.(34;35)

#### *Efectos sobre el suelo*

En el suelo, DDT y DDE son fuertemente adsorbidos. Sin embargo, también pueden volatilizarse, sobre todo si se encuentran en suelos húmedos, fotodegradarse en la superficie o biodegradarse. Estas sustancias se incorporan a las plantas, de las que se alimentan los animales acumulándose en su tejido adiposo y en la leche.

La mayor parte del DDT en el suelo es degradado lentamente a DDE y DDD por microorganismos. La vida media del DDT en el suelo es de 2-15 años. La vida media de una sustancia, indica el tiempo que se estima necesario para que desaparezca el 50% de la misma, pero el tiempo requerido para perder la otra mitad restante puede ser más largo, y la tasa de desaparición puede disminuir más con el paso del tiempo. Estas sustancias pueden permanecer en el suelo potencialmente durante cientos de años. La razón de que perdure durante tanto tiempo puede ser porque se una fuertemente a las partículas del suelo y esté menos expuesto a los microorganismos. El tiempo que permanezca en el suelo dependerá de factores como la temperatura, el tipo de suelo, la humedad del mismo. Así, persiste menos tiempo en los trópicos donde el químico se evapora más rápido y donde los microorganismos lo degradan con mayor celeridad. Tan sólo una pequeña cantidad pasará a través del suelo al agua subterránea.(21;36)

#### *Efectos sobre los seres vivos*

La persistencia del DDT y sus metabolitos, junto con su lipofilidad ha contribuido a su bioacumulación (incremento de la concentración de un químico en un organismo que excede lo que hay en el ambiente) y biomagnificación (incremento de la concentración de un químico en un organismo como función de su nivel trófico). DDT y DDE se acumulan en plantas y tejidos grasos de peces, aves y otros animales.(27)

Entre las aves se ha detectado que estas sustancias producen un adelgazamiento de la cáscara de los huevos, lo que dificulta su incubación, dando lugar a una disminución de la población. También se han descrito problemas en la reproducción de ciertas especies de peces.(37) Además, en estudios experimentales en ratones se ha encontrado un aumento de la incidencia de cáncer de pulmón y linfomas, aumento de los tumores hepáticos en ratas y tumores adrenales en hamsters.(19)

Desde su prohibición las concentraciones de DDT en los animales y en el ambiente han ido disminuyendo, aunque debido a su estabilidad química y a su liposolubilidad, el DDT y especialmente el DDE, persisten en el medio ambiente y es detectable en humanos. Los efectos sobre la salud humana se desarrollarán de forma más amplia en los siguientes apartados.

### 1.4.3. Vías de exposición en la población

La principal fuente de exposición al DDT y DDE en la población general es a través de la ingesta de carne, aves y pescados grasos, donde se encuentran las más altas concentraciones de estos productos.(19) La cantidad de DDT detectada en los alimentos ha disminuido desde su prohibición, pero todavía se detectan en muchos productos.(38-40) Estas sustancias se pueden encontrar con mayor probabilidad en alimentos importados de países donde todavía se utiliza el DDT.(27)

La exposición también podría ocurrir, durante el uso y aplicación del DDT antes de la prohibición, por inhalación o absorción a través de la piel. Actualmente, los niveles de estos compuestos en el aire y en el agua han disminuido tanto que la exposición a los mismos es muy pequeña comparada con las fuentes dietéticas.

La excreción del DDE se puede realizar por la leche materna y es conocida su capacidad de atravesar la placenta.(41) Por este motivo, los niños también pueden estar expuestos a través de estas fuentes de exposición.(42)

Una estimación de la dosis absorbida por todas las vías de exposición involucradas, se puede obtener a través de la monitorización biológica, que consiste en la medición del compuesto activo o de sus metabolitos en medios



biológicos (sangre, orina, tejido adiposo, etc.) para obtener una estimación del nivel corporal del plaguicida en cuestión.(11)

Debido a su lento metabolismo y a su larga vida media, la concentración de DDE en tejido adiposo puede ser usada como biomarcador de exposición prolongada al DDT. Desde su prohibición, se ha constatado en estudios llevados a cabo en distintos países una tendencia a la disminución de los niveles del metabolito DDE(25;43-45), en tanto que en otros las concentraciones permanecen casi constantes o han disminuido sólo ligeramente.(26;46) Se calcula que el DDT tardaría en desaparecer de un individuo entre 10 y 20 años si la exposición cesase totalmente, pero que el DDE posiblemente persistiría durante toda su vida.(26) La vida media del DDE en plasma se ha estimado en 10 años aproximadamente.(47) Según algunos autores, los actuales niveles ambientales de exposición pueden resultar en la bioacumulación de estos productos en el organismo y son preocupantes por los posibles efectos sobre la salud que pueden ocasionar.(17)

#### **1.4.4. Efectos sobre la salud**

La inducción de las enzimas microsomales hepáticas se demostró como el efecto más precoz relacionado con la exposición a DDT en términos de dosis-respuesta. Este efecto no se observa por debajo del valor límite propuesto en trabajadores expuestos para DDT más DDE en suero de 250 µg/l.(48)

Niveles elevados de DDT pueden afectar al sistema nervioso produciendo excitabilidad, temblores y convulsiones. En mujeres también se ha descrito una disminución en la duración del periodo de lactancia.(36)

La importancia de la exposición al DDT y DDE se debe a la demostración de su carcinogenicidad en animales de experimentación, aunque los resultados de los estudios que analizan su carcinogenicidad en humanos son inconsistentes.(49) El DDT ha sido clasificado por la *OMS* como un producto de Clase II “Moderadamente Peligroso”, su  $DL_{50}$  es de 113 mg/kg (Tabla 2).(15) La *Environmental Protection Agency (EPA)* clasificó al DDT y DDE según su carcinogenicidad en el grupo B2, probables carcinógenos humanos.(50;51) Así mismo, la *IARC* ha determinado de acuerdo a la evidencia disponible que estos compuestos pertenecen al grupo 2B, posiblemente carcinógenos humanos.(19;49)

El DDT y su metabolito, el DDE, se han identificado como disruptores endocrinos con capacidad para poder afectar a la vida reproductiva y los procesos de desarrollo tanto de humanos como de animales.(52) Se han descrito alteraciones en la reproducción y en el desarrollo de ciertos animales, así como aberraciones cromosómicas en cultivos celulares animales.(53)

El DDT actúa como un estrógeno ambiental débil, por lo que se ha relacionado con alteraciones en el desarrollo sexual y con el riesgo de cáncer de mama.(54) El DDE, tiene un efecto estrogénico muy débil, pero se ha demostrado su acción como bloqueante androgénico, por la inhibición de la unión del andrógeno a su receptor.(55;56)

Se está estudiando activamente el papel de la exposición al DDE en la etiología del cáncer de mama,(20;57-59) cáncer de páncreas,(60) linfoma no Hodgkin,(61) cáncer hepático,(62), nacimientos prematuros,(63) criptorquidia e hipospadias, entre otros,(64) aunque no existen por el momento resultados concluyentes.

Como consecuencia a todo lo expuesto anteriormente, persistencia en el medio ambiente, acumulación en la cadena alimentaria y efectos sobre la salud humana, la *Organización de las Naciones Unidas (ONU)* promovió en 2001 el *Convenio de Estocolmo* con el fin de eliminar o restringir la producción o uso de los compuestos orgánicos persistentes (*COPs*), entre los que se encuentra el insecticida DDT.(65) Este Convenio entró en vigor en mayo de 2004 al haber sido ratificado por un número suficiente de países.

El citado Convenio pretende, en relación al DDT, conseguir eliminar la producción y uso del mismo una vez exista un consenso sobre las alternativas disponibles más seguras y económicamente viables para la protección de la salud pública. Se restringe el uso del DDT a la producción de dicofol, pero con la intención de reevaluar este uso a los 2 años de la entrada en vigor del acuerdo.

Aunque se han identificado varios determinantes de los niveles de DDE (edad, raza...),(66), hay pocos estudios sobre los determinantes de este biomarcador.(67;68) Un mayor conocimiento sobre los mismos ayudaría a identificar potenciales confusores en estudios epidemiológicos y permitiría identificar las fuentes de exposición de la población. Asimismo, el papel de los organoclorados, en concreto del DDE, en relación con ciertos factores reproductivos estudiados en este documento, como la edad de la menopausia, ha sido considerado en muy pocos estudios.

El conocimiento de los niveles de DDE y de su relación con ciertos alimentos en los que se acumulan en mayor cantidad estas sustancias, sería de utilidad para proporcionar recomendaciones dietéticas que contribuyan a disminuir la exposición a las mismas, así como conocer factores reproductivos que pudieran ser potencialmente alterados por niveles elevados de DDE.

## 1.5. Estudio EURAMIC

Para evaluar la asociación entre DDE y otros biomarcadores nutricionales del tejido adiposo, así como la asociación entre los niveles de DDE y factores reproductivos en mujeres, se examinaron los datos originales proporcionados por el estudio “*EUROpean study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Cancer of the breast*” (EURAMIC), analizando exhaustivamente la información necesaria para responder a los objetivos específicos de esta Tesis Doctoral que se detallarán seguidamente y revisando los fundamentos biológicos del proceso.

El estudio original consiste en un proyecto internacional mediante un diseño de casos y controles, financiado por la *Comisión Europea*, con el objetivo primario de evaluar el efecto de los antioxidantes sobre el riesgo de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas. En este estudio, fueron obtenidas muestras de tejido adiposo para determinar concentraciones de antioxidantes, ácidos grasos y DDE como potenciales factores de riesgo para el cáncer de mama.(69;70) El grupo control de este estudio comprende una muestra representativa de la población femenina de la que surgieron los casos de cinco ciudades europeas (Berlín, Zürich, Zeist, Coleraine y Málaga). Los datos de esta muestra nos proporcionan una oportunidad para examinar las asociaciones entre el nivel de DDE y una serie de biomarcadores dietéticos y diversos factores reproductivos en mujeres postmenopáusicas aparentemente sanas.

## 2. OBJETIVOS

## **OBJETIVO GENERAL**

- Conocer los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas, como indicador de la posible contaminación ambiental y de ciertos alimentos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar las posibles fuentes de exposición dietética evaluando la asociación entre DDE y otros biomarcadores nutricionales en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas de cinco países europeos.

- Examinar la asociación entre los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas de la población estudiada y factores reproductivos como edad de la menopausia y número de hijos.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**



### **3.1. Diseño del estudio**

Estudio descriptivo transversal en el que se estudiaron mujeres postmenopáusicas de 50-74 años de edad residentes en el área de reclutamiento de 5 centros europeos: Berlín (Alemania), Zeist (Holanda), Coleraine (Irlanda del Norte), Málaga (España) y Zürich (Suiza). Nuestro estudio se ha realizado entre los años 1998 y 2004, manejando datos de sujetos reclutados durante 1991 y 1992.

### **3.2. Sujetos del estudio**

Se incluyeron mujeres que formaban parte del grupo control del proyecto EURAMIC que estudiaba el efecto de los antioxidantes sobre el riesgo de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas. Se obtuvieron de la población originaria de los casos del citado estudio y apareados por edad (en intervalos de 5 años).

Se incluyeron 373 mujeres postmenopáusicas (sin menstruación en los últimos 24 meses), de entre 50 y 74 años, pertenecientes a la población autóctona del país y que hablaran el idioma oficial del mismo.

Se excluyeron las mujeres con historia previa de cáncer de mama, historia de abuso de drogas o alcohol, trastornos psiquiátricos mayores (que pudieran interferir con su capacidad para dar el consentimiento informado), institucionalizadas o que hubiesen modificado su dieta el año anterior (ej. intervenciones dietéticas especiales por razones de salud, pérdidas de peso que excedieran los 5 Kg., uso de suplementos que contuvieran  $\alpha$ -tocoferol,  $\beta$ -caroteno o selenio).

En Berlín y Zürich se utilizaron muestras aleatorias de registros de la población local. En Zeist, Coleraine y Málaga, las mujeres fueron seleccionadas por muestreo aleatorio de las listas de pacientes de médicos generales. En general, el objetivo de los controles seleccionados era asegurar la factibilidad del estudio buscando siempre una población de personas en los que sus niveles de exposición a las variables de estudio fueran representativos de la población de la que surgieron los casos.

Los porcentajes de respuesta se calcularon como el número de sujetos entrevistados que cumplían los requisitos para ser elegidos dividido por el número de participantes invitados (incluyendo un porcentaje desconocido de sujetos no aptos para el estudio). Las tasas de respuesta fueron: Berlín, 45%; Zeist, 50%; Coleraine, 46%; Málaga, 91%; y Zürich, 22% (Tabla 4).(70)

**Tabla 4. Fuente y modo de reclutamiento de los sujetos de estudio**

<b>País</b>	<b>Centro</b>	<b>Fuente</b>	<b>%respuesta</b>	<b>Nº sujetos<sup>1</sup></b>
Alemania	Berlín	RP	45	59
España	Málaga	MG	91	68
Holanda	Zeist	MG	50	67
Irlanda del Norte	Coleraine	MG	46	105
Suiza	Zürich	RP	22	74
Total				373

RP: Registros Poblacionales; MG: Médicos Generales

<sup>1</sup>Número de sujetos de los que se disponen datos (numerador de los porcentajes de respuesta). El denominador incluye los sujetos no elegidos.

Se obtuvo el consentimiento informado de las participantes del estudio de acuerdo con los estándares éticos de los comités responsables en experimentación humana de cada centro.

### **3.3. Recogida de datos**

La información sobre el hábito tabáquico, antecedentes médicos y de la esfera reproductiva, así como medidas antropométricas fueron recogidas para todas las mujeres incluidas en la población de estudio utilizando cuestionarios estándar. El nivel socioeconómico y el consumo de alcohol fueron evaluados a través de cuestionarios desarrollados localmente.

El hábito tabáquico se incluyó como un indicador general del estilo de vida. En el Anexo I se incluye el cuestionario para la evaluación del hábito de fumar, que incluye las principales formas del hábito tabáquico y duración del mismo.

Las diferentes variables relacionadas con la esfera reproductiva y con el historial médico de los sujetos de estudio se recogieron mediante el cuestionario incluido en el Anexo II.

Las definiciones utilizadas para realizar las mediciones antropométricas de una forma estandarizada se recogen en el Anexo III.

El nivel socioeconómico se considera que está relacionado con el estilo de vida, incluyendo los hábitos dietéticos y el estado nutricional, la utilización de las instituciones sanitarias, y la negativa a cooperar en la recogida de información de los biomarcadores. Cada centro disponía de un método generalmente adaptado a las circunstancias locales.

El consumo de alcohol también se puede utilizar como un indicador del estilo de vida. Los datos se recogieron mediante cuestionarios validados que incluían frecuencia y cantidad de bebidas alcohólicas consumidas durante los días laborables y los fines de semana, permitiendo evaluar el consumo de alcohol en gramos por semana durante el último año. Para obtener la cantidad

total de alcohol consumida por semana, se calculó el número de unidades de alcohol consumidas a la semana y se asumió que cada unidad equivalía a 10 gramos de alcohol.(71)

Las muestras de tejido adiposo subcutáneo se tomaron por aspiración con aguja del tejido adiposo subcutáneo de la región glútea.(69;70;72) Todos los centros de investigación extrajeron las muestras de tejido adiposo de un modo estandarizado, mostrado en un video distribuido entre los centros.

Posteriormente a la aspiración, el tejido adiposo fue colocado inmediatamente en hielo seco o en nitrógeno líquido y almacenado a  $-70^{\circ}\text{C}$ . Para el control de calidad, muestras de referencia de tejido graso fueron proporcionadas por el centro coordinador, se guardaron con las muestras recogidas y se incluyeron en el envío con las muestras de tejido graso de todos los sujetos del estudio. Las muestras fueron transportadas al centro coordinador (Zeist) en hielo seco para el análisis. En el laboratorio central las muestras de referencia fueron analizadas para detectar condiciones anormales de almacenaje y transporte.

### 3.4. Análisis de laboratorio

Las muestras de tejido adiposo fueron tratadas centralmente en el TNO (*Toxicology and Nutrition Institute*) en Zeist, Holanda.(69;70) La muestra saponificada se acidificó con ácido clorhídrico y se extrajeron los ácidos grasos libres. Los niveles de ácidos grasos fueron determinados por cromatografía de gases (*HRGC 5300 Mega Series, Carlo Erba Instruments*, Milán, Italia). Los niveles de ácidos grasos se expresan como la proporción del área pico del total de ácidos grasos.

Las concentraciones de antioxidantes en tejido adiposo se determinaron por cromatografía de alta resolución de fase inversa y detección espectrofotométrica.(73;74) El coeficiente de variación para el análisis de  $\beta$ -caroteno y  $\alpha$ -tocoferol fue del 7% (en valores medios de 2,1 y 84  $\mu\text{g/g}$  en las muestras de control de calidad, respectivamente). Los límites de detección fueron 0,05-0,10  $\mu\text{g/g}$  para el  $\alpha$ - caroteno, 0,02  $\mu\text{g/g}$  para el  $\beta$ -caroteno, 2  $\mu\text{g/g}$  para el  $\alpha$ -tocoferol, 0,05-0,10  $\mu\text{g/g}$  para el licopeno, y 0,10  $\mu\text{g/g}$  para el retinol. Las concentraciones de vitaminas se expresaron en  $\mu\text{g}$  por gramo del total de ácidos grasos.

El análisis del DDE fue realizado en el *National Institute of Public Health and Environmental Protection* en Bilthoven, Holanda. Las muestras disponibles para el análisis eran extractos que contenían una solución de isooctano con

ácidos grasos metilados del tejido adiposo original y ácido heptadecanóico (C17:0) como estándar interno para la determinación de ácidos grasos. Los niveles de DDE se detectaron mediante un sistema de cromatografía de gas y líquido (*Dualchrom 2000, Carlo Erba Instruments, Milán, Italia*) y detección por captura de electrones. El límite de detección para el DDE fue de 0,1 ng/ml. Si el nivel de DDE estaba por debajo de este límite (n=19), se introdujo la mitad de la concentración más baja de las restantes muestras. Las concentraciones de DDE fueron expresadas en µg de DDE por gramo de ácidos grasos en el aspirado.

Para realizar el control de calidad, dos muestras de control consistentes en una mezcla de mantequilla y grasa frita se sometieron al procedimiento completo para la determinación de los ácidos grasos y DDE. Estos controles fueron analizados dentro de cada lote de muestras para C17:0 y DDE. A un nivel de 25 µg/ml de C17:0, los coeficientes de variación dentro de cada lote variaron de 1-5% para el C17:0 y entre lotes de 7-8%. Para el DDE, el coeficiente de variación intra-lote para soluciones de 1,5 ng/ml fue del 5%. El coeficiente de variación entre lotes del análisis para soluciones de 0,25 ng/ml fue del 15%.(75)

### **3.5. Variables del estudio**

#### **3.5.1. Variables del sujeto**

Edad (años), peso corporal (Kg), altura (cm), nivel socioeconómico bajo (1-Sí; 0-No), índice de masa corporal (*IMC*) ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), circunferencia de la cintura (cm), circunferencia de la cadera (cm), índice cintura-cadera (*ICC*), número de cigarrillos al día como variable continua y categorizada como fumadora actual (1-Sí; 0-No), consumo de alcohol (gr/semana) como variable continua y categorizada según si era o no bebedora actual (1-Sí; 0-No) y centro de estudio al que pertenecen los sujetos.

#### **3.5.2. Variables de laboratorio**

Concentración de DDE en tejido adiposo ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ), niveles de los siguientes antioxidantes ajustados por el porcentaje de grasa de la biopsia: alfa-tocoferol, beta-caroteno, retinol, gamma-tocoferol, licopeno y alfa-caroteno ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ), niveles de los ácidos grasos (*AG*) recogidos en la tabla 5 son expresados como porcentaje del total del área de *AG*.



Tabla 5. Nomenclatura de los ácidos grasos analizados(76)

Notación abreviada	Nombre sistemático	Nombre trivial
<b>AG saturados (AGS)</b>		
C14:0	Tetradecanoico	Mirístico
C15:0	Pentadecanoico	
C16:0	Hexadecanoico	Palmítico
C18:0	Octadecanoico	Esteárico
C20:0	Eicosanoico	Araquídico
<b>AG monoinsaturados (AGM)</b>		
C18:1 n-9	cis-9-Octadecenoico	Oléico
<b>AG poliinsaturados (AGP)</b>		
<b>AG omega-3</b>		
C18:3 n-3	9,12,15-Octadecatrienoico	$\alpha$ -Linolénico
C22:6 n-3	Docosahexaenoico	Cervónico
<b>AG omega-6</b>		
C18:2 n-6	9c,12c-Octadecadienoico	Linoléico
C18:3 n-6	6,9,12-Octadecatrienoico	$\gamma$ -Linolénico
C20:4 n-6	5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Araquidónico
<b>AG trans</b>		

---

AG = ácido graso

### **3.5.3. Variables relacionadas con factores reproductivos y hormonales**

Número de hijos, edad de la menopausia, edad al primer hijo, edad de la menarquia, paridad (1-Sí; 0-No), uso de anticonceptivos orales (1-Sí; 0-No), tratamiento de sustitución hormonal (1-Sí; 0-No), cirugía ginecológica (1- No; 2- ovariectomía bilateral; 3-histerectomía; 4- ovariectomía bilateral e histerectomía; 5- ovariectomía bilateral o histerectomía).

Se consideraron postmenopáusicas cuando el cese de la menstruación se había producido de forma continuada durante los últimos 24 meses. Se definió la edad de la menopausia natural como la de la última menstruación. Las mujeres que en el momento de la realización del estudio recibían terapia de reemplazamiento hormonal con estrógenos para los síntomas de la perimenopausia no fueron incluidas en el estudio. Si este tratamiento había cesado con anterioridad y no habían tenido menstruaciones en los últimos 24 meses fueron seleccionadas para el mismo.

### **3.6. Análisis estadístico**

#### **3.6.1. Manejo de datos**

Los datos fueron introducidos en una base de datos, utilizando para ello el programa *Statistical Analysis System (SAS)*.<sup>(77)</sup> Posteriormente, se depuraron posibles inconsistencias, verificando la exactitud de los datos introducidos.

#### **3.6.2. Análisis estadístico**

Los niveles de DDE fueron transformados logarítmicamente, para eliminar la asimetría de la distribución, así como para mejorar su normalidad y asegurar la homogeneidad de varianzas a distintos niveles medios de DDE (homocedasticidad). Se realizó un análisis descriptivo de los datos global y por centros. Se calcularon los intervalos de confianza (*IC*) al 95% para los niveles medios del  $\log_{10}$ DDE y los resultados se presentaron en su escala original.<sup>(78)</sup>

Se realizaron además análisis descriptivos de otras variables relevantes de los sujetos del estudio, utilizando en la comparación de medias de las distintas variables por centros el ANOVA con ajuste de Scheffé para comparaciones múltiples.

Para estimar la asociación lineal entre ácidos grasos, antioxidantes, factores reproductivos y las concentraciones de  $\log_{10}$ DDE en tejido adiposo se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson y de correlación parcial ajustados por centro y edad.(79;80) Se usaron variables indicadoras para ajustar por centro de reclutamiento. Además para cada variable independiente, se usaron términos cuadráticos para explorar asociaciones no lineales.

Complementariamente, se realizaron modelos de regresión lineal múltiple (79;80) para evaluar el efecto independiente de los distintos determinantes (edad, centro de reclutamiento, ácidos grasos y antioxidantes) en los niveles de DDE. Así como para explorar el efecto del DDE en la edad de la menopausia ajustado por edad, centro de reclutamiento, factores reproductivos o hábitos de vida. En los diferentes modelos se incluyeron factores que presentaban correlaciones que reflejaran una asociación importante, factores de riesgo establecidos en la literatura, así como las principales variables incluidas en la hipótesis de estudio. Las variables categóricas incluidas en el modelo se introdujeron como variables indicadoras.

También se realizaron las representaciones gráficas de las regresiones lineales ajustadas por edad y centro con sus correspondientes intervalos de confianza al 95%, entre las variables dependientes y las principales variables predictoras del estudio, según el método de ajuste propuesto por Willett et al. en el contexto de epidemiología nutricional.(81;82)

Se consideró como significativo un valor de  $p$  menor que 0,05. Todos los valores de  $p$  proporcionados son bilaterales. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS.(77)

### **3.7. Control de calidad**

El control de calidad en este estudio estuvo garantizado por la aplicación de idénticos criterios en la selección de los sujetos de todos los centros, por la definición *a priori* de la fuente poblacional de casos y controles, el análisis en un laboratorio central de la composición de ácidos grasos y vitaminas en tejido adiposo y por el análisis estadístico de los datos agrupados de forma centralizada.

## **4. RESULTADOS**

## **4.1. Determinantes de la concentración de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas**

### **4.1.1. Descripción de las participantes del estudio**

El número de mujeres postmenopáusicas que participaron como controles en el estudio EURAMIC, que evaluaba el efecto de los antioxidantes sobre el riesgo de cáncer de mama, fue de 373. Sin embargo, la muestra de tejido adiposo fue insuficiente para realizar un análisis fiable de DDE, ácidos grasos o antioxidantes, en 45 de los sujetos. Por tanto, los análisis para el estudio de los determinantes de la concentración de DDE se basaron en los 328 sujetos restantes para los que las mediciones estaban disponibles.

Las principales características de los 328 participantes del estudio se resumen en la Tabla 6. El 28,65% de los sujetos pertenecían al centro irlandés, las participantes suizas representaban el 20,73% de la población a estudio y los centros de Málaga, Zeist y Berlín aportaban el 19,20%, 15,85% y 15,54% de la población estudiada, respectivamente. Todas las mujeres eran postmenopáusicas, con una media de edad ajustada por centro de 62,21 años (intervalo de confianza [IC] al 95% = 61,60 – 62,82).

Se encontraron diferencias significativas intercentros para la edad, el peso, la altura, el índice de masa corporal (IMC), el índice cintura-cadera (ICC), el número de hijos, el consumo de alcohol, así como en el porcentaje de mujeres con nivel socioeconómico bajo, fumadoras y bebedoras actuales en el momento del estudio (todos los valores  $p$  globales del ANOVA fueron  $p < 0,001$ ).

En Zeist, el ICC así como la altura de sus participantes fueron significativamente mayores que en el resto de los centros. Las mujeres del centro irlandés tenían un peso significativamente menor que el resto de los centros. La altura de las mujeres de Málaga y el porcentaje de fumadoras y bebedoras actuales fueron significativamente menores, que las de los otros centros participantes, con un IMC significativamente más alto que las mujeres del resto de los centros, mientras también era mayor el porcentaje de población con nivel socioeconómico bajo.



**Tabla 6. Descripción global y por centros de las participantes del estudio. Los valores son medias e intervalos de confianza al 95%**

	Berlín	Zeist	Coleraine	Zürich	Málaga	Global†
<b>N</b>	51	52	94	68	63	328
<b>Edad</b>	60,45	62,37	61,87	64,43	61,95	62,21
(años)	(58,73-62,17)	(60,70-64,04)	(60,93-62,81)	(63,16-65,70)	(60,66-63,24)	(61,60-62,82)
<b>Peso</b>	69,78	70,32	63,73‡	69,54	71,90	69,04
(kg)	(66,62-72,94)	(67,38-73,26)	(61,52-65,94)	(67,21-71,87)	(68,76-75,04)	(67,81-70,27)
<b>Altura</b>	1,64	1,68‡	1,62	1,61	1,55‡	1,62
(m)	(1,62-1,65)	(1,66-1,69)	(1,60-1,63)	(1,59-1,62)	(1,53-1,56)	(1,61-1,62)
<b>IMC</b>	26,04	24,94	24,41	27,05	30,00‡	26,48
(kg/m <sup>2</sup> )	(24,92-27,16)	(24,00-25,88)	(23,61-25,21)	(26,03-28,07)	(28,88-31,12)	(26,03-26,93)
<b>Nº Hijos</b>	1,55	2,77	2,19	1,93	2,87	2,26
	(1,12-1,98)	(2,28-3,26)	(1,84-2,54)	(1,54-2,32)	(2,46-3,28)	(2,06-2,46)
<b>ICC</b>	0,83	0,92‡	0,79	0,86	0,86	0,85
	(0,81-0,85)	(0,90-0,94)	(0,77-0,81)	(0,84-0,88)	(0,84-0,88)	(0,84-0,86)
<b>Alcohol</b>	64,98	71,53	19,16	65,32	0,62	44,25
(gr/sem)	(30,93-99,03)	(46,36-96,70)	(9,60-28,72)	(38,66-91,98)	(-0,12-1,36)	(34,98-53,52)
<b>Bebedora</b>	73,47	80,85	33,33	71,64	4,76‡	51,26
<b>Actual (%)</b>	(61,11-85,83)	(69,60-92,10)	(23,75-42,91)	(60,85-82,43)	(0,00-10,02)	(46,56-55,96)
<b>NSE bajo</b>	22,00	50,00	18,09	27,94	82,54‡	40,19
(%)	(10,52-33,48)	(36,41-63,59)	(10,31-25,87)	(17,27-38,61)	(73,17-91,91)	(35,53-44,85)
<b>Fumadora</b>	25,49	26,92	15,96	11,94	0,00‡	16,05
<b>Actual (%)</b>	(13,53-37,45)	(14,86-38,98)	(8,56-23,36)	(4,18-19,70)	(0,00-0,00)	(12,15-19,95)

IMC = índice de masa corporal; ICC = índice cintura/cadera; NSE = nivel socioeconómico

† Ajustado por edad y centro.

‡ Centros con valores significativamente diferentes con respecto al resto de los centros usando ANOVA con el ajuste de Scheffé para comparaciones múltiples

---

#### 4.1.2. Niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas

Los niveles de DDE por centro y globales, así como sus distribuciones se presentan en la Tabla 7. El valor medio de las concentraciones de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas ajustado por edad y centro era de 1,66  $\mu\text{g/g}$  (IC al 95% = 1,46-1,88). El valor más bajo lo presentó Coleraine con 1,07  $\mu\text{g/g}$  (IC al 95% = 0,83-1,37). La media geométrica de DDE era significativamente más alta en Málaga (3,34  $\mu\text{g/g}$  [IC al 95% = 2,53 – 4,40]) que en el resto de los centros (ANOVA  $p < 0,001$ ). Los intervalos de confianza para las medias de Berlín, Zeist, Coleraine, y Zürich se solapaban, y las diferencias no alcanzaron significación estadística.

Las distribuciones de la concentración global y en los distintos centros presentaban una asimetría positiva, por lo que los cálculos fueron realizados con el  $\log_{10}\text{DDE}$  para mejorar la normalidad de la distribución, obteniendo posteriormente las medias geométricas retransformando los valores de  $\log_{10}\text{DDE}$ .

**Tabla 7. Concentración de DDE ( $\mu\text{g/g}$ ) global y por centros en tejido adiposo**

Centro	N	Percentiles					Media (IC 95%)*
		10	25	50	75	90	
Berlín	51	0,58	1,05	2,18	3,46	4,45	1,70 (1,30-2,22)
Zeist	52	0,45	0,79	1,63	2,73	4,01	1,41 (1,09-1,84)
Coleraine	94	0,25	0,58	1,36	2,30	4,61	1,07 (0,83-1,37)
Zürich	68	0,29	1,03	1,85	3,04	4,94	1,45 (1,06-1,98)
Málaga	63	1,05	2,54	3,74	6,02	9,47	3,34 (2,53-4,40)†
Global	328	0,35	0,91	1,90	3,55	5,59	1,66 (1,46-1,88) ‡

DDE=diclorodifenildicloroetileno; IC 95% = intervalo de confianza al 95%

\* Media geométrica, retransformada de los valores de  $\log_{10}$ DDE

† Valores de DDE significativamente diferentes al resto de los centros, usando ANOVA con ajuste de Scheffé para comparaciones múltiples

‡ Global ajustado por edad y centro

---

#### 4.1.3. Análisis de la asociación entre los niveles de DDE y sus posibles determinantes

Los coeficientes de correlación globales para las asociaciones entre ácidos grasos y  $\log_{10}$ DDE en tejido adiposo se muestran en la Tabla 8. Aunque las asociaciones no ajustadas fueron significativas para los ácidos grasos saturados, monoinsaturados y ácidos grasos *trans*, así como para varios ácidos grasos individualmente (incluyendo el C14:0, C15:0, C16:0, C18:0, C20:0, C18:1 n-9, C18:3 n-3, C20:4 n-6 y C22:6 n-3), estas correlaciones se debieron fundamentalmente a las diferencias intercentros. Después del ajuste la única asociación con coeficiente de correlación parcial significativo ( $r = -0,16$ ;  $p = 0,004$ ) fue para el ácido araquídico (C20:0). El coeficiente de correlación parcial entre  $\log_{10}$ DDE y el ácido docosahexaenoico (C22:6 n-3), un biomarcador del pescado fue 0,08 ( $p = 0,14$ ).

Los coeficientes de correlación crudos globales para la asociación de vitaminas antioxidantes y el  $\log_{10}$ DDE en el tejido adiposo, que se muestran en la Tabla 9, fueron pequeños y no significativos. El mayor coeficiente de correlación parcial ajustado por edad y centro se encontró entre el  $\log_{10}$ DDE y el retinol ( $r = 0,10$ ;  $p = 0,09$ ).

**Tabla 8. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre log<sub>10</sub>DDE y ácidos grasos en tejido adiposo**

Ácido graso	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad y centro	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Saturados	26,17	4,55	-0,20	0,0002	0,02	0,76
C14:0	2,83	0,97	-0,25	0,0001	-0,01	0,90
C15:0	0,39	0,16	-0,25	0,0001	-0,05	0,34
C16:0	19,78	2,98	-0,16	0,005	0,05	0,42
C18:0	2,71	1,04	-0,12	0,03	-0,02	0,75
C20:0	0,14	0,09	-0,25	0,0001	-0,16	0,004
Monoinsaturados	57,08	5,59	0,24	0,0001	0,03	0,61
C18:1 n-9	46,9	6,48	0,27	0,0001	0,01	0,85
Poliinsaturados	14,04	3,72	-0,04	0,46	-0,04	0,48
AG omega-3	0,80	0,25	-0,05	0,32	0,09	0,12
C18:3 n-3	0,58	0,21	-0,13	0,02	0,06	0,26
C22:6 n-3	0,17	0,09	0,15	0,01	0,08	0,14
AG omega-6	13,24	3,71	-0,04	0,50	-0,04	0,43
C18:2 n-6	12,38	3,61	-0,05	0,37	-0,05	0,37
C18:3 n-6	0,05	0,04	0,08	0,13	-0,01	0,92
C20:4 n-6	0,38	0,11	0,13	0,02	0,09	0,13
AG trans	1,12	0,63	-0,25	0,0001	-0,05	0,42

DDE=diclorodifenildicloroetileno; DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE se presentan como porcentaje del área del total de AG

**Tabla 9. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y antioxidantes en tejido adiposo**

Antioxidantes/ vitaminas	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad y centro	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
$\alpha$ -tocoferol	314,22	155,69	-0,01	0,85	-0,02	0,75
$\gamma$ -tocoferol	35,36	19,93	-0,001	0,99	0,05	0,41
$\alpha$ -caroteno	0,20	0,18	-0,05	0,32	0,03	0,57
$\beta$ -caroteno	1,17	0,93	-0,10	0,07	-0,003	0,96
Retinol	1,91	0,92	-0,05	0,38	0,10	0,09
Licopeno	0,41	0,28	0,04	0,51	0,07	0,20

DDE=diclorodifenildicloroetileno; DE = desviación estándar

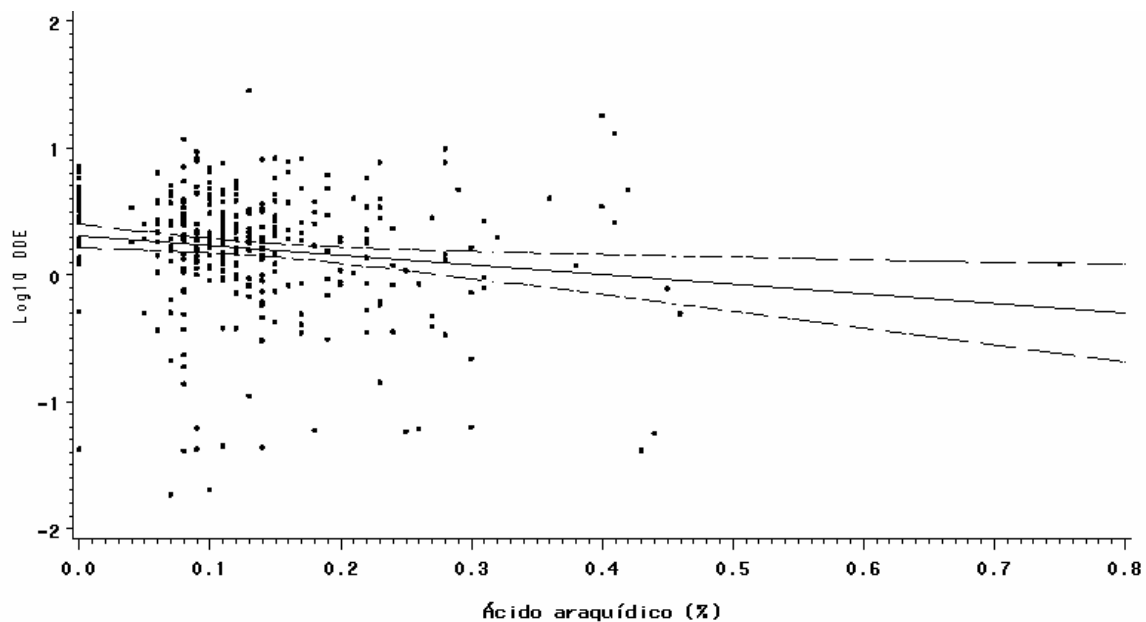
Las medias y DE se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .

Los coeficientes de correlación de Pearson para la asociación entre los niveles de  $\log_{10}$ DDE y los índices de masa corporal y de cintura-cadera fueron de 0,22 ( $p < 0,001$ ) y 0,12 ( $p = 0,04$ ) respectivamente; pero la asociación resultó principalmente de las diferencias intercentros. Los coeficientes de correlación parcial ajustados por edad y centro para el IMC fueron de 0,10 ( $p = 0,07$ ) y para el ICC de 0,06 ( $p = 0,31$ ).

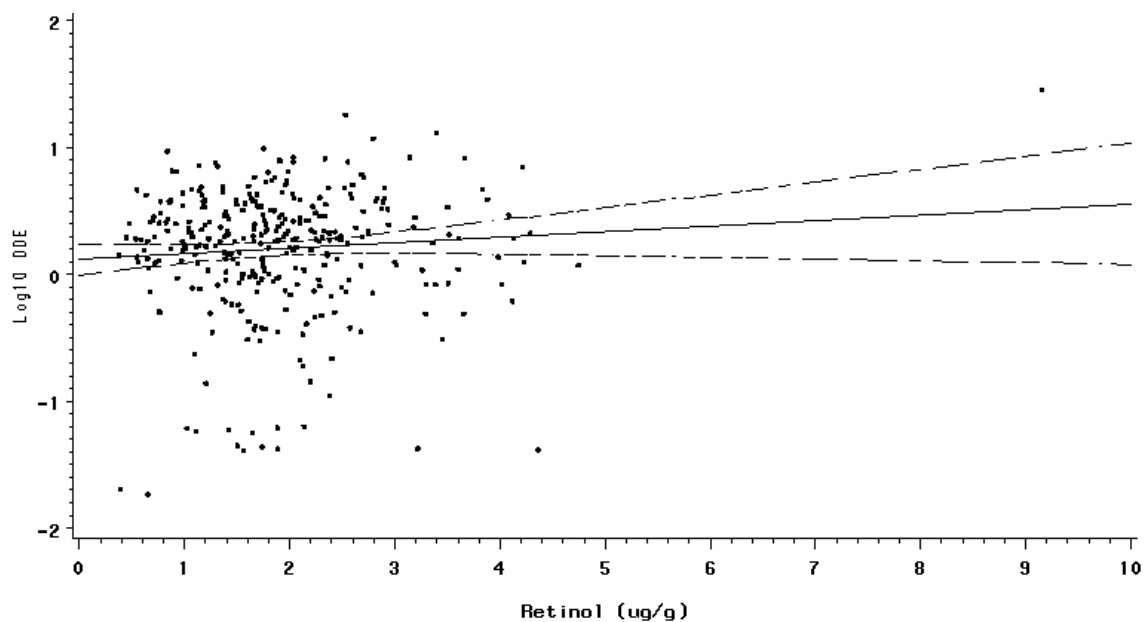
El  $\log_{10}$ DDE tampoco se asoció con el número de hijos ( $r = 0,04$ ;  $p = 0,46$ ). Los niveles de DDE ajustados por edad y centro para las mujeres con 0, 1, 2, 3, y  $\geq 4$  hijos fueron  $1,67 \mu\text{g/g}$ ,  $1,62 \mu\text{g/g}$ ,  $1,40 \mu\text{g/g}$ ,  $1,57 \mu\text{g/g}$  y  $2,14 \mu\text{g/g}$ , respectivamente. Posteriormente, se desarrollará más este aspecto.

Se realizaron representaciones gráficas de las líneas estimadas de regresión ajustadas por edad y centro y sus intervalos de confianza al 95% entre el  $\log_{10}$ DDE y ácidos grasos y antioxidantes o vitaminas con coeficientes de correlación parciales ajustados por centro y edad mayores o iguales a 0,10 en valor absoluto (ácido araquídico y retinol) y el ácido docosahexaenoico, un biomarcador del consumo de pescado (Figuras 2-4).

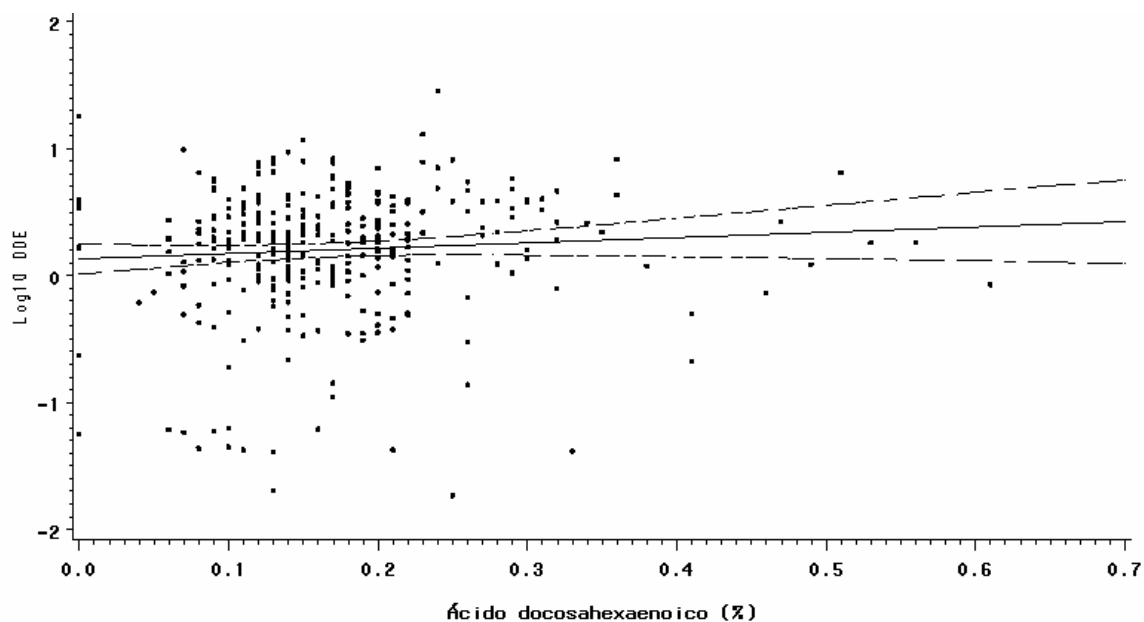
**Figura 2. Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y ácido araquídico en tejido adiposo**



**Figura 3. Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y retinol en tejido adiposo**



**Figura 4. Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y ácido docosahexaenoico en tejido adiposo**

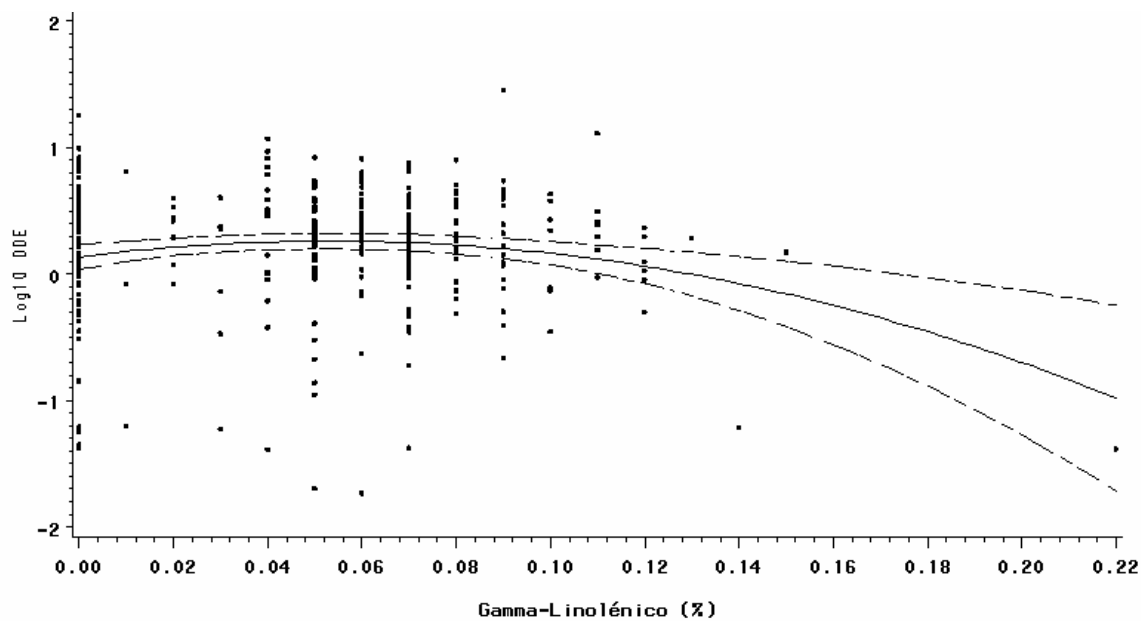




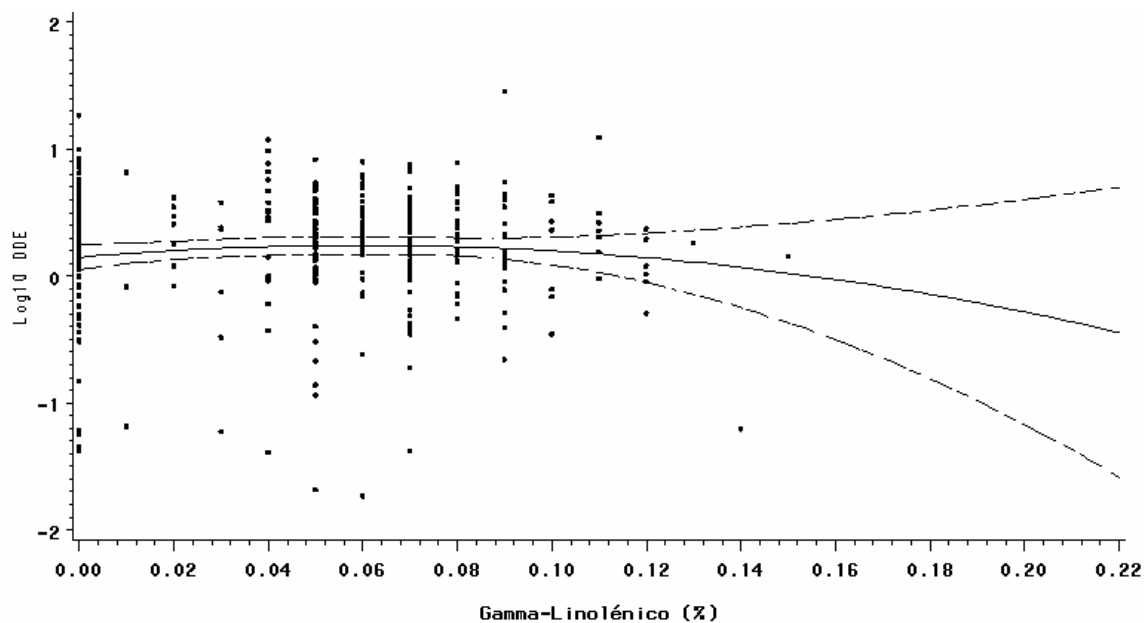
Con el fin de examinar la posible existencia de asociaciones no lineales, se utilizaron términos cuadráticos para cada variable predictora. Todos los términos cuadráticos evaluados fueron no significativos, excepto para la asociación de  $\log_{10}$ DDE con ácido  $\gamma$ -linolénico y con el  $\alpha$ -tocoferol en los que después de ajustar por edad y centro los niveles de significación fueron  $p = 0,0003$  y  $p = 0,01$ , respectivamente.

En cada caso, la asociación cuadrática fue como resultado de un único valor extremo, cuando éste era excluido de los análisis y ajustando por edad y centro se obtenía para el ácido  $\gamma$ -linolénico una  $p = 0,10$  (Figuras 5a y 5b) y para el  $\alpha$ -tocoferol una  $p = 0,75$  (Figuras 6a y 6b). Por este motivo, los términos cuadráticos no fueron tenidos en cuenta. La exclusión de estos valores extremos no alteraba los resultados, por eso se incluyeron en los análisis.

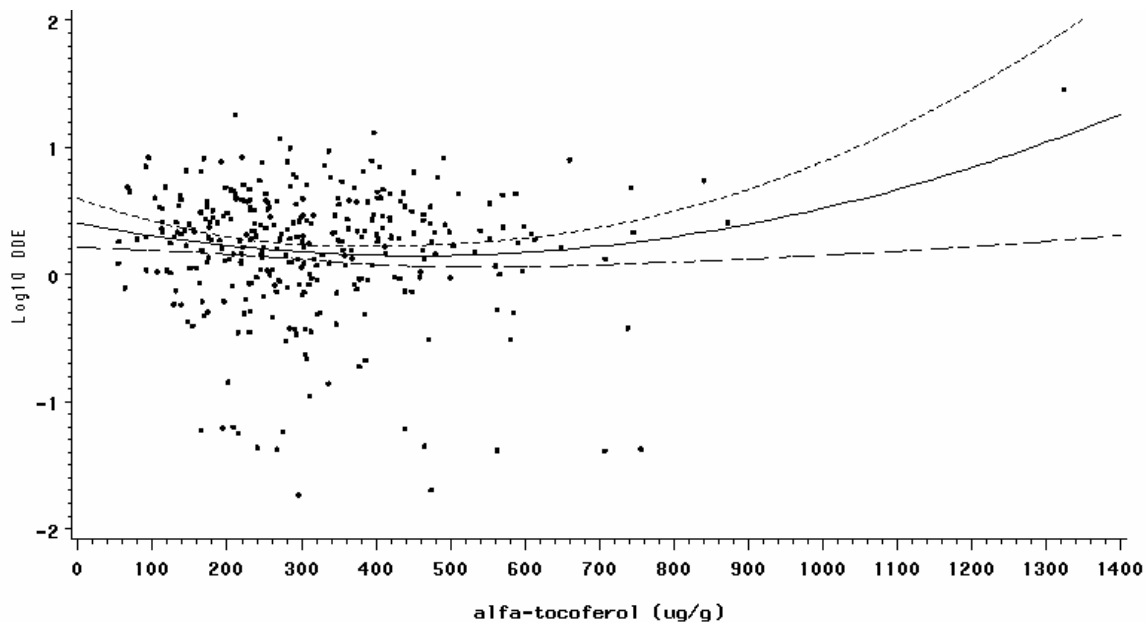
**Figura 5a. Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y el ácido graso  $\gamma$ -linolénico**



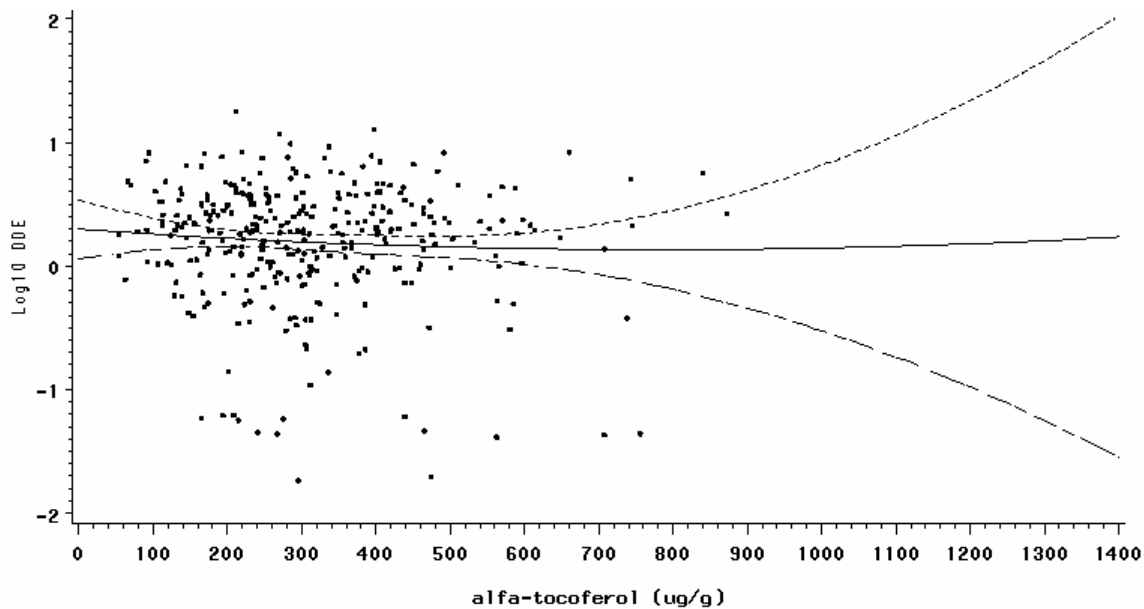
**Figura 5b. Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y el ácido graso  $\gamma$ -linolénico después de excluir el valor extremo**



**Figura 6a. Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y  $\alpha$ -tocoferol**



**Figura 6b. Representación gráfica de la regresión cuadrática e intervalo de confianza al 95 % ajustada por edad y centro entre el  $\log_{10}$ DDE y  $\alpha$ -tocoferol después de excluir el valor extremo**



A continuación, se presentan las medias y desviaciones estándar de AG y antioxidantes, así como los coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE , ácidos grasos y antioxidantes en los diferentes centros participantes en el estudio.

En la tabla 10 se muestran los resultados correspondientes a Berlín. Este centro presentaba una correlación parcial ajustada por edad significativa ( $r = 0,31$ ;  $p = 0,03$ ) para el ácido graso monoinsaturado oléico (C18:1 n-9).

Los coeficientes de correlación para el centro Zeist se encuentran en la tabla 11. Únicamente fue significativo el coeficiente de correlación parcial para la asociación entre el  $\log_{10}$ DDE y el ácido  $\gamma$ -linolénico (C18:3 n-6) ( $r = -0,28$ ;  $p = 0,04$ ).

En el centro de Coleraine los coeficientes parciales que resultaron significativos (tabla 12), correspondieron al ácido araquídico (C20:0) ( $r = -0,28$ ;  $p = 0,01$ ) y al  $\alpha$ -caroteno ( $r = -0,22$ ;  $p = 0,03$ ).

En la tabla 13 se muestran los datos de Zürich en el que de las asociaciones ajustadas por edad entre ácidos grasos y  $\log_{10}$ DDE en tejido adiposo, fue significativa únicamente el ácido  $\gamma$ -linolénico (C18:3 n-6) ( $r = 0,27$ ;  $p = 0,03$ ). El coeficiente de correlación parcial para la asociación entre el licopeno y el  $\log_{10}$ DDE también resultó significativo ( $r = 0,35$ ;  $p = 0,004$ ).

La tabla 14 presenta los datos del centro español (Málaga) en el que tan sólo el ácido araquidónico (C20:4 n-6) presentaba una correlación ajustada por edad significativa con el  $\log_{10}$ DDE ( $r = 0,33$ ;  $p = 0,01$ ).

**Tabla 10. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Berlín (N = 51)**

	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Ácidos grasos</b>						
Saturados	27,50	2,96	-0,23	0,11	-0,23	0,11
C14:0	2,73	0,52	-0,15	0,30	-0,15	0,30
C15:0	0,39	0,10	-0,14	0,32	-0,15	0,30
C16:0	20,91	2,08	-0,20	0,16	-0,20	0,16
C18:0	3,08	0,87	-0,19	0,18	-0,19	0,19
C20:0	0,12	0,10	-0,05	0,71	-0,05	0,72
Monoinsaturados	57,37	3,27	0,28	0,05	0,28	0,05
C18:1 n-9	46,06	2,01	0,31	0,03	0,31	0,03
Poliinsaturados	12,95	2,48	-0,10	0,48	-0,11	0,47
AG omega-3	1,02	0,24	0,18	0,20	0,18	0,21
C18:3 n-3	0,72	0,19	0,26	0,06	0,26	0,06
C22:6 n-3	0,23	0,10	-0,05	0,75	-0,05	0,75
AG omega-6	11,93	2,40	-0,12	0,39	-0,13	0,38
C18:2 n-6	11,04	2,36	-0,13	0,35	-0,14	0,34
C18:3 n-6	0,06	0,02	0,27	0,06	0,27	0,06
C20:4 n-6	0,40	0,11	0,02	0,89	0,01	0,94
AG trans	0,80	0,21	0,05	0,75	0,05	0,75
<b>Antioxidantes o vitaminas</b>						
$\alpha$ -tocoferol	288,01	141,44	-0,12	0,39	-0,12	0,39
$\gamma$ -tocoferol	38,45	15,52	0,05	0,70	0,05	0,71
$\alpha$ -caroteno	0,20	0,15	0,04	0,80	0,04	0,76
$\beta$ -caroteno	1,15	0,86	0,06	0,66	0,07	0,64
Retinol	2,18	0,67	0,17	0,22	0,18	0,22
Licopeno	0,49	0,33	0,13	0,35	0,15	0,30

DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE en los AG se presentan como porcentaje del área del total de AG

Las medias y DE en los antioxidantes o vitaminas se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .

**Tabla 11. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Zeist (N = 52)**

	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Ácidos grasos</b>						
Saturados	27,41	3,33	0,04	0,79	0,04	0,80
C14:0	3,15	0,60	-0,08	0,55	-0,08	0,57
C15:0	0,39	0,12	-0,16	0,25	-0,16	0,27
C16:0	20,51	2,44	0,09	0,53	0,09	0,54
C18:0	2,81	0,81	0,04	0,80	0,03	0,81
C20:0	0,16	0,12	-0,22	0,12	-0,22	0,12
Monoinsaturados	53,76	3,73	0,02	0,90	0,02	0,89
C18:1 n-9	42,11	2,00	-0,08	0,57	-0,08	0,56
Poliinsaturados	15,70	3,66	-0,01	0,97	-0,01	0,96
AG omega-3	0,88	0,20	0,09	0,51	0,09	0,53
C18:3 n-3	0,67	0,20	0,06	0,66	0,06	0,67
C22:6 n-3	0,17	0,08	0,08	0,58	0,08	0,59
AG omega-6	14,82	3,63	-0,01	0,94	-0,01	0,94
C18:2 n-6	13,88	3,58	-0,01	0,95	-0,01	0,95
C18:3 n-6	0,06	0,05	-0,28	0,04	-0,28	0,04
C20:4 n-6	0,45	0,12	0,11	0,43	0,11	0,45
AG trans	1,50	0,59	-0,02	0,90	-0,02	0,89
<b>Antioxidantes o vitaminas</b>						
$\alpha$ -tocoferol	313,52	106,59	0,16	0,27	0,16	0,26
$\gamma$ -tocoferol	48,08	27,50	0,06	0,69	0,05	0,71
$\alpha$ -caroteno	0,25	0,17	0,04	0,78	0,04	0,77
$\beta$ -caroteno	1,40	0,74	-0,10	0,47	-0,10	0,49
Retinol	2,43	0,92	0,07	0,60	0,07	0,63
Licopeno	0,47	0,30	-0,19	0,18	-0,19	0,19

DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE en los AG se presentan como porcentaje del área del total de AG

Las medias y DE en los antioxidantes o vitaminas se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .

**Tabla 12. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Coleraine (N = 94)**

	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Ácidos grasos</b>						
Saturados	28,05	3,60	0,01	0,91	0,001	0,99
C14:0	3,38	0,76	-0,07	0,49	-0,07	0,48
C15:0	0,47	0,14	-0,15	0,16	-0,15	0,15
C16:0	20,65	2,46	0,12	0,24	0,11	0,28
C18:0	2,97	1,05	-0,12	0,23	-0,13	0,20
C20:0	0,19	0,10	-0,28	0,01	-0,28	0,01
Monoinsaturados	54,99	3,53	0,05	0,65	0,07	0,52
C18:1 n-9	43,91	2,38	0,01	0,94	0,02	0,83
Poliinsaturados	13,49	4,00	-0,04	0,72	-0,04	0,69
AG omega-3	0,89	0,21	0,002	0,98	0,01	0,95
C18:3 n-3	0,70	0,18	-0,01	0,91	-0,03	0,93
C22:6 n-3	0,15	0,08	0,06	0,56	0,04	0,69
AG omega-6	12,61	3,95	-0,04	0,72	-0,04	0,69
C18:2 n-6	11,89	3,82	-0,04	0,72	-0,04	0,69
C18:3 n-6	0,03	0,04	-0,13	0,23	-0,15	0,15
C20:4 n-6	0,33	0,11	-0,01	0,96	-0,01	0,94
AG trans	1,58	0,52	-0,10	0,33	-0,12	0,25
<b>Antioxidantes o vitaminas</b>						
$\alpha$ -tocoferol	252,41	118,15	-0,11	0,28	-0,11	0,30
$\gamma$ -tocoferol	31,57	18,75	0,003	0,98	0,01	0,95
$\alpha$ -caroteno	0,17	0,11	-0,22	0,03	-0,22	0,03
$\beta$ -caroteno	1,19	0,70	-0,09	0,40	-0,09	0,37
Retinol	1,90	0,75	-0,01	0,96	0,003	0,97
Licopeno	0,34	0,26	-0,03	0,81	-0,02	0,84

DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE en los AG se presentan como porcentaje del área del total de AG

Las medias y DE en los antioxidantes o vitaminas se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .



**Tabla 13. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Zürich (N = 68)**

	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Ácidos grasos</b>						
Saturados	27,69	3,47	0,09	0,49	0,09	0,49
C14:0	3,26	0,67	0,18	0,14	0,18	0,15
C15:0	0,48	0,12	0,14	0,25	0,14	0,25
C16:0	20,83	2,36	-0,01	0,94	-0,01	0,93
C18:0	2,68	1,29	0,12	0,31	0,13	0,30
C20:0	0,10	0,04	-0,02	0,87	-0,01	0,91
Monoinsaturados	54,97	3,44	-0,01	0,93	-0,01	0,92
C18:1 n-9	44,30	2,45	0,05	0,67	0,06	0,65
Poliinsaturados	14,56	2,68	-0,01	0,41	-0,10	0,42
AG omega-3	0,65	0,15	0,15	0,23	0,15	0,22
C18:3 n-3	0,47	0,12	0,10	0,42	0,10	0,40
C22:6 n-3	0,13	0,05	0,14	0,27	0,14	0,27
AG omega-6	13,91	2,67	-0,11	0,37	-0,11	0,38
C18:2 n-6	13,07	2,62	-0,12	0,34	-0,12	0,35
C18:3 n-6	0,05	0,03	0,27	0,03	0,27	0,03
C20:4 n-6	0,38	0,10	0,02	0,85	0,02	0,84
AG trans	1,15	0,43	-0,05	0,66	-0,05	0,67
<b>Antioxidantes o vitaminas</b>						
$\alpha$ -tocoferol	444,23	192,86	0,16	0,20	0,15	0,21
$\gamma$ -tocoferol	36,13	18,03	0,11	0,39	0,11	0,39
$\alpha$ -caroteno	0,30	0,26	0,20	0,09	0,21	0,10
$\beta$ -caroteno	1,64	1,35	0,08	0,54	0,08	0,54
Retinol	2,14	1,04	0,21	0,09	0,21	0,09
Licopeno	0,50	0,29	0,35	0,003	0,35	0,004

DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE en los AG se presentan como porcentaje del área del total de AG

Las medias y DE en los antioxidantes o vitaminas se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .

**Tabla 14. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad entre  $\log_{10}$ DDE, ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo en Málaga (N = 63)**

	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Ácidos grasos</b>						
Saturados	19,60	2,47	0,10	0,45	0,10	0,43
C14:0	1,35	0,31	0,03	0,83	0,03	0,84
C15:0	0,18	0,05	0,10	0,43	0,10	0,46
C16:0	15,84	1,94	0,12	0,36	0,12	0,34
C18:0	1,98	0,59	0,01	0,96	0,02	0,90
C20:0	0,09	0,04	-0,10	0,46	-0,09	0,49
Monoinsaturados	64,99	5,39	-0,06	0,64	-0,07	0,62
C18:1 n-9	58,20	5,42	-0,07	0,59	-0,07	0,59
Poliinsaturados	13,81	4,62	0,003	0,98	0,01	0,96
AG omega-3	0,60	0,15	0,11	0,40	0,12	0,36
C18:3 n-3	0,36	0,06	-0,09	0,50	-0,08	0,55
C22:6 n-3	0,20	0,10	0,19	0,13	0,20	0,12
AG omega-6	13,21	4,62	0,00002	0,99	0,002	0,99
C18:2 n-6	12,23	4,50	-0,01	0,91	-0,01	0,92
C20:4 n-6	0,40	0,11	0,33	0,01	0,33	0,01
C18:3 n-6	0,06	0,02	0,13	0,33	0,13	0,31
AG trans	0,35	0,26	0,06	0,65	0,06	0,64
<b>Antioxidantes o vitaminas</b>						
$\alpha$ -tocoferol	287,89	124,99	-0,23	0,08	-0,23	0,08
$\gamma$ -tocoferol	27,16	12,88	0,01	0,92	0,03	0,84
$\alpha$ -caroteno	0,07	0,05	-0,13	0,31	-0,14	0,28
$\beta$ -caroteno	0,50	0,29	-0,07	0,58	-0,09	0,50
Retinol	1,01	0,48	-0,01	0,92	-0,01	0,95
Licopeno	0,31	0,14	-0,07	0,60	-0,09	0,50

DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE en los AG se presentan como porcentaje del área del total de AG

Las medias y DE en los antioxidantes o vitaminas se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .

Se evaluaron las diferencias entre los centros en la asociación entre el biomarcador y el  $\log_{10}$ DDE, examinando la significación de la interacción centro-biomarcador en modelos de regresión lineal del  $\log_{10}$ DDE. Las interacciones fueron significativas para el ácido  $\gamma$ -linolénico ( $p = 0,01$ ), el licopeno ( $p = 0,02$ ), y el  $\alpha$ -caroteno ( $p = 0,05$ ). Sin embargo, las variables para las que se detectaron diferencias entre centros no fueron significativas para explicar la variabilidad de la concentración de DDE en tejido adiposo, por tanto no fueron tenidas en cuenta. Por último, el efecto de los determinantes principales del DDE no difería entre centros, es decir, eran homogéneos.

Finalmente, se realizó un modelo de regresión lineal múltiple para el  $\log_{10}$ DDE ajustado por edad, variables indicadoras para el centro de estudio, ácidos grasos, y antioxidantes o vitaminas con coeficientes de correlación parciales ajustados por centro y edad, mayores o iguales a 0,10 en valor absoluto (ácido araquídico y retinol) y el ácido docosahexaenoico (Tabla 15).

Globalmente, el modelo explicó el 14,9% de la variabilidad del  $\log_{10}$ DDE. El centro de reclutamiento fue el determinante más importante, debido principalmente a los niveles de DDE más altos de Málaga ( $p$  global  $< 0,001$ ). El  $\log_{10}$ DDE se asoció inversamente con el ácido araquídico ( $p = 0,001$ ) y positivamente con el retinol ( $p = 0,04$ ), pero la asociación positiva del  $\log_{10}$ DDE con el ácido docosahexaenoico no alcanzó significación estadística.

Las mujeres con una concentración de ácido araquídico en el percentil 90 de la distribución tienen una concentración de DDE significativamente menor en un 37% respecto a los que se encuentran en el percentil 10 de la distribución. Por el contrario, los sujetos del estudio con retinol en el percentil 90 presentan una concentración de DDE en tejido adiposo 41% mayor, en el límite de la significación, respecto a los que se encuentran en el percentil más bajo de la distribución (tabla 15).

**Tabla 15. Regresión lineal múltiple entre  $\log_{10}$ DDE y los principales determinantes en tejido adiposo en el estudio EURAMIC**

Variable	$\beta^*$	EE*	$p$	Razón percentiles 90/10 (DDE†)	
				Razón	IC 95%
Intercept	-0,17	0,33			
Edad	0,003	0,01	0,52		
Berlín	0,08	0,09	0,42		
Zeist	0,03	0,09	0,71		
Zürich	0,02	0,09	0,82		
Málaga	0,43	0,09	<0,001		
Ácido araquídico	-1,07	0,33	0,001	0,63	0,48-0,83
Ácido docosahexaenoico	0,42	0,34	0,22	1,20	0,89-1,62
Retinol	0,07	0,04	0,04	1,41	0,95-2,09

DDE = diclorodifenildicloroetileno; EE = Error estándar; IC = Intervalo de confianza; EURAMIC = European Study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Cancer of the Breast.

\* Coeficientes de regresión  $\beta$  y EE entre  $\log_{10}$ DDE y las variables incluidas en la tabla. La categoría de referencia para el centro de reclutamiento fue Coleraine. El modelo de regresión multivariante explicó el 14,9% ( $R^2$ ) de la variabilidad del  $\log_{10}$ DDE.

†Razón estimada e IC al 95% de DDE entre los percentiles 90 y 10 de los distintos determinantes.

Los anteriores análisis se repitieron excluyendo a los participantes de Málaga, que presentaba los niveles más elevados de DDE. Así, los coeficientes de correlación crudos fueron significativos para los ácidos grasos trans y el C20:0, cuando ajustamos por edad y centro sólo permaneció significativo el C20:0 ( $r = -0,17$ ;  $p = 0,01$ ). En la tabla 16 se presentan medias y desviaciones estándar de los AG, así como los coeficientes de correlación entre  $\log_{10}$ DDE y los ácidos grasos excluyendo los datos de Málaga.

En la tabla 17 se presentan medias y desviaciones estándar de los antioxidantes, junto con los coeficientes de correlación entre  $\log_{10}$ DDE y antioxidantes excluyendo los datos del centro de Málaga. No se encontró ninguna asociación significativa, tan sólo el retinol presentaba un coeficiente de correlación superior a 0,10 ( $r = 0,11$ ;  $p = 0,08$ ).

Como las asociaciones obtenidas con los biomarcadores de consumo fueron similares a las obtenidas con los datos agrupados de todos los centros, los pacientes de Málaga fueron incluidos en todos los análisis.

**Tabla 16. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y ácidos grasos en tejido adiposo excluyendo a las participantes de Málaga**

Ácido graso	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad y centro	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Saturados	27,73	3,39	-0,01	0,92	0,003	0,96
C14:0	3,18	0,70	-0,05	0,41	-0,01	0,87
C15:0	0,44	0,13	-0,09	0,14	-0,07	0,27
C16:0	20,72	2,35	0,04	0,54	0,03	0,61
C18:0	2,89	1,05	-0,03	0,68	-0,02	0,72
C20:0	0,15	0,10	-0,21	0,001	-0,17	0,01
Monoinsaturados	55,20	3,67	0,08	0,20	0,06	0,32
C18:1 n-9	44,07	2,57	0,07	0,23	0,06	0,37
Poliinsaturados	14,09	3,49	-0,04	0,47	-0,05	0,39
AG omega-3	0,85	0,24	0,07	0,24	0,08	0,19
C18:3 n-3	0,64	0,20	0,04	0,49	0,08	0,22
C22:6 n-3	0,16	0,08	0,09	0,16	0,05	0,43
AG omega-6	13,24	3,47	-0,05	0,42	-0,06	0,34
C18:2 n-6	12,42	3,38	-0,06	0,36	-0,06	0,32
C18:3 n-6	0,05	0,04	0,02	0,75	-0,02	0,75
C20:4 n-6	0,38	0,11	0,07	0,27	0,03	0,68
AG trans	1,30	0,55	-0,12	0,05	-0,06	0,34

DE = desviación estándar; AG = ácido graso

Las medias y DE se presentan como porcentaje del área del total de AG

**Tabla 17. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales ajustados por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y antioxidantes en tejido adiposo excluyendo a las participantes de Málaga**

Antioxidantes/ vitaminas	Media	DE	Crudos		Ajustados por edad y centro	
			<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
$\alpha$ -tocoferol	320,47	161,70	0,06	0,36	0,02	0,70
$\gamma$ -tocoferol	37,31	20,82	0,07	0,25	0,05	0,42
$\alpha$ -caroteno	0,23	0,19	0,06	0,30	0,04	0,48
$\beta$ -caroteno	1,34	0,96	0,01	0,84	0,002	0,97
Retinol	2,12	0,87	0,13	0,04	0,11	0,08
Licopeno	0,44	0,30	0,12	0,06	0,09	0,15

DE = desviación estándar  
Las medias y DE se presentan en  $\mu\text{g/g}$ .

## **4.2. Evaluación de la asociación entre los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas de la población de estudio y factores reproductivos**

### **4.2.1. Edad de la menopausia y niveles de DDE**

En la evaluación de la asociación entre edad natural de la menopausia y niveles de DDE en tejido adiposo se incluyeron en los análisis un total de 255 mujeres, en las que la menopausia se produjo de forma natural. Entre las 373 mujeres que inicialmente participaban en el estudio, se excluyeron 83 en las que el cese de la menstruación se produjo como consecuencia de una cirugía (histerectomía, ovariectomía o ambas), así como aquellas en las que la muestra de tejido adiposo era insuficiente para realizar un análisis fiable de DDE (n=35).

La distribución global y por centros de reclutamiento de variables reproductivas, niveles de DDE y otras variables relacionadas con la edad de inicio de la menopausia se presenta en la tabla 18. La edad media de las mujeres en el momento del estudio ajustada por centro fue de 62,61 años (IC al 95% = 61,94-63,28). La menopausia natural se produjo en estas mujeres con una media de edad ajustada por centro de reclutamiento de 49,55 años (IC al 95% = 48,96-50,15). El tiempo medio transcurrido desde la menopausia hasta la



realización de la entrevista fue de 13,06 años. La media geométrica de las concentraciones de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas ajustado por edad y centro era de 1,49  $\mu\text{g/g}$  (IC al 95% = 1,28-1,75).

Se encontraron diferencias significativas intercentros para la edad al inicio del estudio, niveles de DDE, número de hijos, índice de masa corporal (IMC), consumo de alcohol, así como en el porcentaje de mujeres con nivel socioeconómico bajo, fumadoras y bebedoras actuales y en el uso de anticonceptivos orales (los valores  $p$  globales del ANOVA fueron  $p < 0,001$ ; excepto para la edad y el porcentaje de fumadoras actuales que fueron  $p = 0,02$ ).

Respecto al centro español, presentaba diferencias significativas con el resto de los centros, en cuanto a un mayor índice de masa corporal (30,04  $\text{kg/m}^2$ ), mayor porcentaje de población perteneciente a un nivel socioeconómico bajo (80,33%) y un menor porcentaje de bebedoras actuales (6,56%). En cuanto a los niveles de DDE fueron superiores en Málaga y significativamente diferentes con tres de los centros excepto con Berlín.

**Tabla 18. Descripción global y por centros de las participantes en el estudio de la asociación entre DDE y menopausia. Los valores se expresan en medias, porcentajes e intervalos de confianza al 95%**

	Berlín	Zeist	Coleraine	Zürich	Málaga	Global†
<b>N</b>	31	41	68	54	61	255
<b>Edad al estudio</b> (años)	61,77 (59,61-63,93)	63,22 (61,52-64,91)	61,76 (60,59-62,94)	64,57 (63,28-65,87)	61,72 (60,41-63,04)	62,61 (61,94-63,28)
<b>Edad Menopausia</b> (años)	50,00 (48,51-51,49)	48,78 (47,54-50,02)	48,72 (47,25-50,19)	50,65 (49,60-51,69)	49,61 (48,67-50,54)	49,55 (48,96-50,15)
<b>Edad Menarquia</b> (años)	14,07 (13,57-14,56)	13,39 (12,90-13,88)	13,69 (13,35-14,02)	13,96 (13,57-14,36)	13,37 (12,98-13,76)	13,70 (13,50-13,89)
<b>Nº Hijos</b>	1,26 (0,83-1,68)	2,88 (2,30-3,45)	1,93 (1,51-2,34)	1,96 (1,54-2,39)	2,90 (2,47-3,33)	2,18 (1,97-2,40)
<b>Paridad</b> (%)	67,74 (51,24-84,16)	92,68 (84,74-100,66)	70,59 (59,77-81,42)	66,67 (46,83-86,57)	88,53 (80,64-96,32)	77,24 (72,00-82,48)
<b>IMC</b> (kg/m <sup>2</sup> )	25,31 (24,25-26,37)	24,69 (23,61-25,77)	23,99 (23,01-24,97)	26,68 (25,48-27,88)	30,04‡ (28,88-31,20)	26,14 (25,61-26,67)
<b>Alcohol</b> (gr/sem)	53,61 (23,69-83,53)	67,11 (44,13-80,09)	21,50 (9,2-33,80)	61,93 (36,82-87,04)	1,39 (-0,25-3,03)	41,09 (32,63-49,55)
<b>Bebedora</b> <b>Actual (%)</b>	66,67 (49,80-83,54)	84,85 (72,61-97,08)	48,00 (34,15-61,85)	81,25 (70,21-92,29)	6,56‡ (0,35-12,77)	57,57 (52,16-62,97)
<b>NSE bajo</b> (%)	20,00 (5,69-34,32)	51,22 (35,35-67,09)	13,24 (5,18-21,30)	29,63 (17,45-41,81)	80,33‡ (70,35-90,31)	38,81 (33,78-45,82)
<b>Fumadora</b> <b>Actual (%)</b>	29,03 (13,05-45,01)	24,39 (11,24-37,54)	16,18 (7,42-24,94)	13,21 (4,09-22,33)	1,64 (0,00-4,83)	16,88 (12,42-21,36)
<b>Uso anticonceptivos</b> (%)	38,71 (21,56-55,86)	48,78 (33,48-64,08)	8,82 (1,15-16,48)	14,81 (5,34-24,28)	1,64 (0,00-4,83)	22,60 (18,29-26,92)
<b>DDE*</b> (µg/g)	1,89 (1,40-2,54)	1,21 (0,82-1,77)	0,96 (0,72-1,28)	1,10 (0,76-1,60)	3,09 (2,25-4,23)	1,49 (1,28-1,75)

NSE = nivel socioeconómico; IMC = índice de masa corporal; DDE = diclorodifenildicloroetileno

† Ajustado por edad al inicio del estudio y centro.

‡ Centros con valores significativamente diferentes con respecto al resto de los centros usando ANOVA con el ajuste de Scheffé para comparaciones múltiples

\* Media geométrica, retransformada de los valores de log<sub>10</sub>DDE

La tabla 19 muestra la media de edad de comienzo de la menopausia para cada tercil de la concentración de DDE en tejido adiposo y la  $p$  de tendencia. En el centro de reclutamiento de Málaga, las mujeres con mayores niveles de DDE, presentaban una edad de inicio de la menopausia menor con una  $p$  de tendencia ajustada por edad al inicio del estudio significativa ( $p = 0,03$ ). En Zürich, también se encontró una edad de menopausia menor en el último tercil de DDE pero la  $p$  tendencia ajustada no resultó significativa ( $p = 0,09$ ). Sin embargo, tanto globalmente como en el resto de los centros no aparecía una tendencia decreciente en la edad de la menopausia.

**Tabla 19. Medias de edad de la menopausia en cada tercil de concentración de DDE en tejido adiposo y  $p$  de tendencia**

	N	Crudas				Ajustadas*			
		T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	$p$ tendencia	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	$p$ tendencia
Berlín	31	50,18	48,89	50,73	0,77	50,11	48,97	50,73	0,73
Zeist	41	48,31	48,53	49,54	0,45	48,40	48,11	49,93	0,35
Coleraine	68	48,82	49,30	49,00	0,53	47,85	49,32	48,95	0,56
Zürich	54	52,06	50,20	49,76	0,09	52,08	50,17	49,79	0,09
Málaga	61	50,40	50,75	47,76	0,02	50,36	50,75	47,80	0,03
Global	255	49,73	49,15	49,64	0,90	49,83	49,07	49,62	0,69

\*Global ajustado por edad y centro. Medias en cada centro ajustadas por edad

En el análisis de la asociación entre los niveles de  $\log_{10}$ DDE en tejido adiposo y edad de la menopausia, los coeficientes de correlación global y por centros se muestran en la Tabla 20. Tanto Zürich como Málaga presentaban coeficientes de correlación ajustados negativos, pero únicamente el último centro estaba próximo al nivel de significación ( $r = -0,22$ ;  $p = 0,09$ ).

**Tabla 20. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales entre  $\log_{10}$ DDE y edad de la menopausia global y por centros**

	N	Media	DE	Crudos		Ajustados*	
				<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Berlín	31	50,00	4,23	0,09	0,63	0,10	0,61
Zeist	41	48,78	4,05	0,24	0,14	0,24	0,13
Coleraine	68	48,72	6,17	0,11	0,39	0,10	0,42
Zürich	54	50,65	3,91	-0,18	0,20	-0,18	0,19
Málaga	61	49,61	3,73	-0,23	0,07	-0,22	0,09
Global	255	49,51	4,67	0,01	0,90	-0,001	0,99

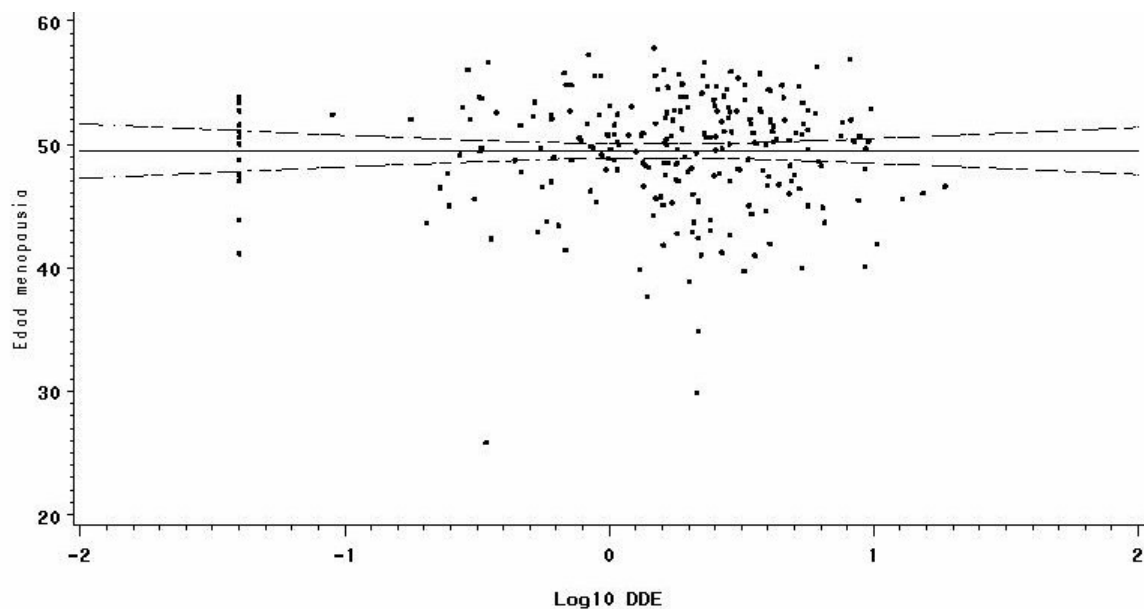
DE = Desviación Estándar

\*Global ajustado por edad y centro y los coeficientes de correlación en cada centro ajustados por edad

Se evaluó la posible existencia de una asociación no lineal entre  $\log_{10}$ DDE y edad de la menopausia utilizando un término cuadrático ajustado por edad y centro que no resultó significativo ( $p = 0,40$ ).

La figura 7 muestra la representación gráfica de la línea estimada de regresión ajustada por edad y centro y su intervalo de confianza al 95% entre el  $\log_{10}$ DDE y edad de la menopausia.

**Figura 7. Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y edad de la menopausia**



Además, se valoró la posible asociación entre edad de la menopausia y otras variables reproductivas y de estilo de vida que se han analizado en otros estudios como posibles variables relacionadas con la edad de la menopausia como: edad al primer hijo, edad de la menarquia, IMC, ICC, paridad, número de hijos, nivel socioeconómico bajo, fumadora actual, número de cigarrillos entre las fumadoras, bebedora actual, alcohol, uso de anticonceptivos y terapia hormonal sustitutiva.

La edad media de la menopausia ajustada por edad y centro para cada una de las categorías de las variables reproductivas y de estilo de vida estudiadas se presenta en la tabla 21. Únicamente, se encontraron diferencias significativas en la media de edad de la menopausia entre las mujeres que fumaban respecto a las no fumadoras en el momento del estudio ( $p = 0,01$ ).

**Tabla 21. Medias de edad de la menopausia ajustadas por edad y centro para las distintas categorías de variables reproductivas y de estilo de vida**

	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>Media</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p*</b>
<b>Edad 1<sup>er</sup>hijo (años)</b>					
≤ 24	78	39,59	50,02	(49,08-50,96)	
> 24 - ≤ 27	61	30,96	49,42	(48,38-50,46)	
> 27	58	29,44	49,65	(48,55-50,75)	0,61
<b>Edad Menarquia (años)</b>					
≤ 13	119	47,04	48,97	(48,13-49,81)	
> 13 - ≤ 14	74	29,25	49,74	(48,55-50,75)	
> 14	60	23,72	50,11	(48,93-51,29)	0,10
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>					
≤ 23,83	84	33,33	49,53	(48,45-50,61)	
> 23,83 - ≤ 27,68	83	32,94	49,93	(48,91-50,95)	
> 27,68	85	33,73	49,18	(48,10-50,26)	0,61
<b>ICC</b>					
≤ 0,81	84	33,47	49,42	(48,32-50,52)	
> 0,81 - ≤ 0,88	84	33,47	49,77	(48,77-50,77)	
> 0,88	83	33,07	49,23	(48,15-50,31)	0,79
<b>Paridad</b>					
No	58	22,75	48,56	(47,91-49,21)	
Sí	197	77,25	49,78	(48,56-51,00)	0,09
<b>Nº Hijos</b>					
≤ 2	91	46,19	49,89	(49,03-50,75)	
> 2 - ≤ 3	53	26,90	49,71	(48,57-50,85)	
> 3	53	26,90	49,46	(48,30-50,62)	0,57

IC = intervalo de confianza; IMC = índice de masa corporal; ICC = índice cintura-cadera  
 \*  $p$  de tendencia en variables politémicas ordinales;  $p$  de heterogeneidad en variables dicotómicas

**Tabla 21 (Cont.). Medias de edad de la menopausia ajustadas por edad y centro para las distintas categorías de variables reproductivas y de estilo de vida**

	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>Media</b>	<b>IC 95%</b>	<b>p*</b>
<b>NSE bajo</b>					
No	153	60,24	49,59	(48,79-50,39)	
Sí	101	39,76	49,35	(48,33-50,37)	0,73
<b>Fumadora actual</b>					
No	212	83,14	49,84	(49,21-50,47)	
Sí	43	16,86	47,88	(46,47-49,29)	0,01
Nº cigarrillos					
≤ 10	17	39,53	48,83	(45,99-51,67)	
> 10 - ≤ 20	23	53,49	47,21	(44,80-49,62)	
> 20	3	6,98	48,40	(41,93-54,87)	0,71
<b>Bebedora actual</b>					
No	107	48,20	49,09	(48,07-50,11)	
Sí	115	51,80	49,92	(48,94-50,90)	0,30
Alcohol (gr/s)					
≤ 30	40	34,78	49,93	(48,52-51,34)	
> 30 - ≤ 72	38	33,04	49,56	(48,13-50,99)	
> 72	37	32,17	50,20	(48,75-51,65)	0,67
<b>Uso ACO</b>					
No	208	81,57	49,28	(48,63-49,93)	
Sí	47	18,43	50,51	(49,00-52,02)	0,16
<b>Sustitución hormonal</b>					
No	210	84,34	49,58	(48,95-50,21)	
Sí	39	15,66	49,55	(48,04-51,06)	0,97

IC = intervalo de confianza; NSE = nivel socioeconómico; ACO = anticonceptivos orales  
 \*  $p$  de tendencia en variables poltómicas ordinales;  $p$  de heterogeneidad en variables dicotómicas



Se realizó un modelo de regresión lineal múltiple para la edad de inicio de la menopausia ajustado por edad,  $\log_{10}$ DDE y variables indicadoras para el centro de estudio, paridad y fumadora actual. Estas dos últimas, se habían presentado como variables relevantes en otros estudios, y mostraban un efecto significativo al introducirlas en el modelo (Tabla 22).

Globalmente, el modelo explicaba el 6,51% de la variabilidad de la edad de la menopausia. El determinante más importante en el modelo fue la variable fumadora actual. La edad de la menopausia se presentaba 2 años antes entre las fumadoras actuales respecto a las no fumadoras ( $p = 0,02$ ). Por otra parte, las mujeres que tenían hijos experimentaban la menopausia 1,35 años más tarde que las nulíparas, aunque esta asociación se encontraba en el límite de la significación ( $p = 0,06$ ). En cuanto a la asociación del  $\log_{10}$ DDE con la edad de la menopausia no alcanzó significación estadística, un incremento del triple de los niveles de DDE suponía una disminución de la edad de la menopausia de 0,03 años. Por último, el centro de reclutamiento presentaba una  $p$  global en el límite de la significación ( $p$  global = 0,05).

**Tabla 22. Análisis de regresión lineal múltiple entre edad de la menopausia y variables predictoras en el estudio EURAMIC**

Variable	Cambio medio en edad menopausia	IC 95%	<i>p</i>
Intercept	50,84	(43,94 - 57,74)	
Edad	-0,04	(-0,16 - 0,08)	0,42
Centro			
Berlín vs. Coleraine	1,59	(-0,39 - 3,57)	0,12
Zeist vs. Coleraine	-0,01	(-1,83 - 1,81)	0,99
Zürich vs. Coleraine	2,18	(0,51 - 3,85)	0,01
Málaga vs. Coleraine	0,39	(-1,32 - 2,10)	0,66
DDE incremento del triple	-0,03	(-0,53 - 0,48)	0,91
Fumadora, sí vs. no	-1,98	(-3,61 - -0,35)	0,02
Paridad, sí vs. no	1,35	(-0,04 - 2,74)	0,06

DDE=diclorodifenildicloroetileno; IC = Intervalo de confianza; EURAMIC= European Study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Cancer of the Breast.

\* La categoría de referencia para el centro de reclutamiento fue Coleraine. El modelo de regresión multivariante explicó el 6,51% ( $R^2$ ) de la variabilidad de la edad de la menopausia.

#### 4.2.2. Número de hijos y niveles de DDE

Con el fin de estudiar los efectos de la lactancia sobre los niveles de DDE en tejido adiposo, se evaluó la asociación entre número de hijos y este compuesto. Por ello, se incluyeron en los análisis un total de 338 mujeres en las que constaba la información sobre el número de hijos, después de la exclusión de aquellas que presentaban una muestra de tejido adiposo insuficiente para realizar un análisis fiable de DDE (n=35).

La descripción global y por centros de reclutamiento de variables reproductivas, niveles de DDE y hábitos de vida se muestra en la tabla 23. El número medio de hijos ajustado por edad y centro fue de 2,26 (IC al 95% = 2,08 – 2,45), las mujeres de Berlín tenían el menor número de hijos con 1,55, mientras que el mayor número (2,94) correspondía a las mujeres de Málaga. El valor de la media geométrica de las concentraciones de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas ajustado por edad y centro incluidas en el presente análisis era de 1,57 µg/g (IC al 95% = 1,38-1,80).

Se encontraron diferencias significativas intercentros para la edad al estudio, niveles de DDE, número de hijos, paridad, índice de masa corporal (IMC), consumo de alcohol, así como en el porcentaje de mujeres con nivel socioeconómico bajo, fumadoras y bebedoras actuales y en el uso de anticonceptivos orales ( $p$  globales del ANOVA fueron  $p < 0,001$ ). Además, los valores  $p$  del ANOVA fueron 0,02 y 0,005 para la edad al primer hijo y edad de la menopausia, respectivamente. Las participantes de Málaga presentan diferencias respecto al resto de los centros en cuanto a IMC, porcentaje de bebedoras actuales y nivel socioeconómico bajo.

**Tabla 23. Descripción global y por centros de las participantes en el estudio de la asociación entre DDE y número de hijos. Los valores se expresan en medias, porcentajes e intervalos de confianza al 95%**

	Berlín	Zeist	Coleraine	Zürich	Málaga	Global†
<b>N</b>	53	56	95	70	64	338
<b>Edad al estudio</b> (años)	60,42 (58,68-62,15)	62,52 (60,95-64,09)	61,83 (60,90-62,76)	64,53 (63,28-65,78)	61,86 (60,58-63,14)	62,23 (61,63-62,82)
<b>Nº Hijos</b>	1,55 (1,13-1,97)	2,71 (2,26-3,16)	2,19 (1,83-2,54)	1,91 (1,52-2,30)	2,94 (2,53-3,35)	2,26 (2,08-2,45)
<b>Paridad</b> (%)	73,59 (68,89-78,29)	91,07 (88,03-94,11)	75,79 (71,22-80,36)	64,29 (59,17-69,41)	89,06 (85,73-92,39)	78,75 (74,34-83,16)
<b>Edad al primer hijo</b> (años)	23,84 (22,70-25,99)	26,51 (25,24-27,78)	26,24 (25,15-27,32)	25,36 (24,29-26,42)	24,75 (23,58-25,93)	25,47 (24,81-25,88)
<b>Edad Menopausia</b> (años)	47,43 (45,73-49,12)	47,94 (46,73-49,15)	47,41 (46,10-48,73)	49,99 (48,97-51,00)	49,63 (48,68-50,59)	48,48 (47,89-49,06)
<b>Edad Menarquia</b> (años)	13,79 (13,37-14,21)	13,46 (13,05-13,87)	13,64 (13,34-13,94)	13,81 (13,45-14,17)	13,35 (12,98-13,72)	13,61 (13,44-13,79)
<b>IMC</b> (kg/m <sup>2</sup> )	25,97 (24,89-27,05)	24,91 (24,03-25,79)	24,42 (23,64-25,20)	27,00 (26,00-27,99)	30,02‡ (28,92-31,12)	26,46 (26,02-26,91)
<b>Alcohol</b> (gr/sem)	72,87 (36,79-108,95)	71,04 (47,60-94,48)	18,96 (9,47-28,45)	65,26 (39,37-91,15)	1,33 (-0,24-2,90)	45,85 (36,54-55,16)
<b>Bebedora</b> <b>Actual</b> (%)	74,51 (62,75-86,27)	85,42 (75,62-95,22)	43,66‡ (31,9-55,42)	82,54 (72,74-92,34)	6,25‡ (0,37-12,13)	58,45 (54,53-62,37)
<b>NSE bajo</b> (%)	21,15 (16,78-25,52)	48,21 (42,88-53,54)	17,90 (13,80-22,00)	28,57 (23,75-33,39)	81,25‡ (77,09-85,41)	39,47 (34,86-44,08)
<b>Fumadora</b> <b>Actual</b> (%)	24,53 (19,94-29,12)	26,79 (22,07-31,51)	15,79 (11,89-19,69)	11,59 (8,18-15,00)	1,56 (0,23-2,89)	16,03 (12,18-19,89)
<b>Uso anticonceptivos</b> (%)	33,96 (28,90-39,02)	50,00 (44,67-55,33)	9,47 (6,35-12,59)	15,71 (11,83-19,59)	3,13 (1,29-4,97)	22,36 (18,48-26,23)
<b>DDE*</b> (µg/g)	1,69 (1,31-2,19)	1,27 (0,94-1,72)	1,03 (0,80-1,33)	1,39 (1,01-1,91)	3,11 (2,30-4,22)	1,57 (1,38-1,80)

NSE = nivel socioeconómico; IMC = índice de masa corporal; DDE = diclorodifenildicloroetileno

† Ajustado por edad y centro.

‡ Centros con valores significativamente diferentes con respecto al resto de los centros usando ANOVA con el ajuste de Scheffé para comparaciones múltiples

\* Retransformado de los valores de log<sub>10</sub>DDE

En la tabla 24 se presenta la distribución de la media de hijos para cada tercil de la concentración de DDE en tejido adiposo. Aunque los valores no ajustados parecían presentar un mayor número de hijos a mayor nivel de DDE con una  $p$  de tendencia global en el límite de la significación ( $p = 0,05$ ); sin embargo, una vez realizado el ajuste por edad y centro las  $p$  de tendencia tanto global ( $p = 0,36$ ) como por centros, no fueron significativas.

**Tabla 24. Número medio de hijos en cada tercil de la concentración de DDE en tejido adiposo y  $p$  de tendencia**

	N	Crudas				Ajustadas*			
		T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	$p$ tendencia	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	$p$ tendencia
Berlín	53	1,71	1,61	1,33	0,48	1,70	1,61	1,34	0,50
Zeist	56	2,93	2,62	3,08	0,86	2,80	3,08	2,77	0,99
Coleraine	95	1,59	2,04	2,17	0,29	1,56	2,03	2,22	0,24
Zürich	70	1,95	1,84	2,13	0,77	1,95	1,82	2,15	0,76
Málaga	64	2,79	2,81	3,10	0,57	2,92	2,80	2,99	0,89
Global	338	2,12	2,11	2,56	0,05	2,17	2,22	2,39	0,36

\*Global ajustado por edad y centro. Las medias en cada centro ajustadas por edad

Tampoco se encontró asociación entre el  $\log_{10}$ DDE y número de hijos, que presentaban un coeficiente de correlación ajustado por edad y centro de 0,03 ( $p = 0,62$ ) (Tabla 25). Tan sólo los centros de Berlín y Zeist presentaban asociaciones inversas entre  $\log_{10}$ DDE y el número de hijos pero no resultaron significativas. Las medias geométricas de los niveles de DDE ajustados por edad

y centro para las mujeres con 0, 1, 2, 3, y  $\geq 4$  hijos fueron 1,57  $\mu\text{g/g}$ , 1,47  $\mu\text{g/g}$ , 1,35  $\mu\text{g/g}$ , 1,52  $\mu\text{g/g}$  y 2,02  $\mu\text{g/g}$ , respectivamente ( $p$  de tendencia = 0,62).

Para evaluar la posible existencia de una asociación no lineal entre  $\log_{10}\text{DDE}$  y número de hijos, se utilizó un término cuadrático que ajustado por edad y centro no resultó significativo ( $p = 0,36$ ).

**Tabla 25. Coeficientes de correlación de Pearson y parciales entre  $\log_{10}\text{DDE}$  y número de hijos globales y por centros**

	N	Media	DE	Crudos		Ajustados*	
				$r$	$p$	$r$	$p$
Berlín	53	1,55	1,56	-0,24	0,08	-0,24	0,09
Zeist	56	2,71	1,74	-0,09	0,50	-0,09	0,53
Coleraine	95	2,19	1,75	0,16	0,11	0,17	0,09
Zürich	70	1,91	1,67	0,06	0,61	0,06	0,60
Málaga	64	2,94	1,70	0,05	0,67	0,02	0,86
Global	338	2,26	1,75	0,07	0,23	0,03	0,62

DE = desviación estándar

\*Global ajustado por edad y centro. Los coeficientes de correlación en cada centro ajustados por edad

El modelo de regresión lineal múltiple para el  $\log_{10}\text{DDE}$  ajustado por edad, variables indicadoras para el centro de estudio y número de hijos se presenta en la tabla 26. Globalmente, el modelo explicó el 9,48% de la variabilidad del  $\log_{10}\text{DDE}$ . El centro de reclutamiento fue el determinante más

importante, debido principalmente a los niveles de DDE más altos de Málaga ( $p$  global < 0,0001). La asociación positiva del  $\log_{10}$ DDE con el número de hijos no alcanzó significación estadística.

**Tabla 26. Regresión lineal múltiple entre  $\log_{10}$ DDE y número de hijos en el estudio EURAMIC**

Variable	$\beta^*$	EE*	p	Razón percentiles 90/10 (DDE†)	
				Razón	IC 95%
Intercept	-0,31	0,34			
Edad	0,01	0,01	0,35		
Berlín	0,23	0,09	0,01		
Zeist	0,08	0,09	0,36		
Zürich	0,12	0,09	0,17		
Málaga	0,47	0,09	<0,001		
Número hijos	0,009	0,17	0,62	1,12	0,71-1,76

DDE=diclorodifenildicloroetileno; EE= Error estándar; IC= Intervalo de confianza; EURAMIC= European Study on Antioxidants, Myocardial Infarction and Cancer of the Breast.

\* Coeficientes de regresión  $\beta$  y EE entre  $\log_{10}$ DDE y las variables incluidas en la tabla. La categoría de referencia para el centro de reclutamiento fue Coleraine. El modelo de regresión multivariante explicó el 9,48% ( $R^2$ ) de la variabilidad del  $\log_{10}$ DDE.

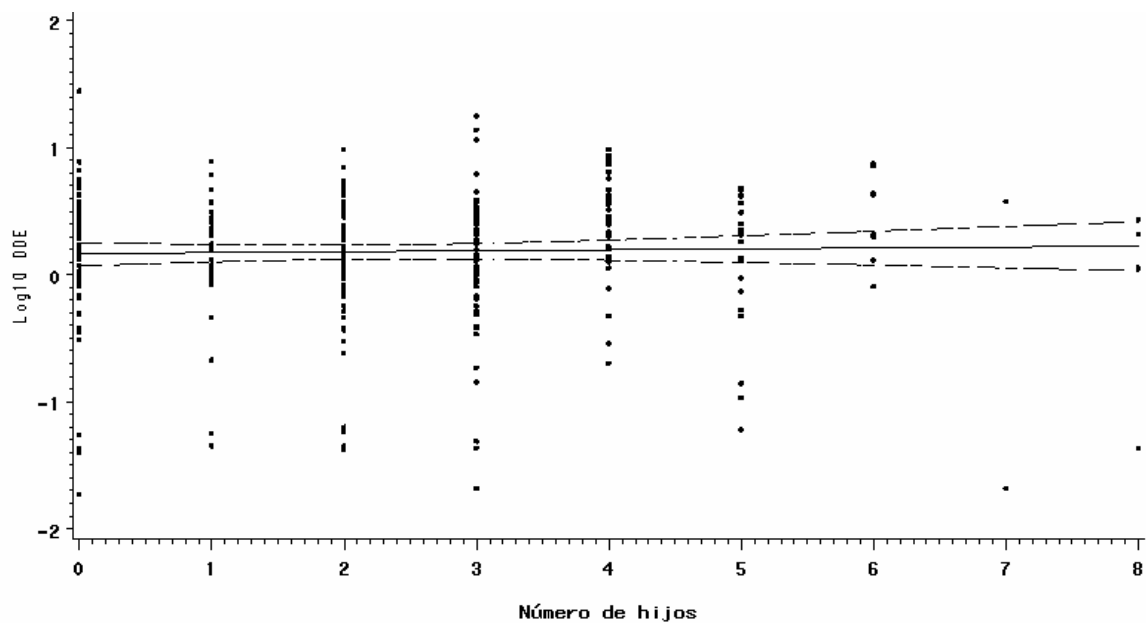
†Razón estimada e IC al 95% de DDE entre los percentiles 90 y 10 del número de hijos.

Las mujeres que tienen 5 o más hijos, es decir, que se encuentran en el percentil 90 de la distribución del número de hijos, presentan una concentración de niveles de DDE un 12% mayor respecto a las que no tienen hijos (percentil 10 de la distribución).



La figura 8 muestra la representación gráfica de la línea estimada de regresión ajustada por edad y centro y su intervalo de confianza al 95% entre el  $\log_{10}$ DDE y el número de hijos.

**Figura 8. Representación gráfica de la regresión lineal ajustada por edad y centro entre  $\log_{10}$ DDE y número de hijos**



## **5. DISCUSIÓN**

---

### **5.1. Niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas europeas**

El DDE, debido a su estabilidad y liposolubilidad, persiste en el medio ambiente y se almacena en tejido adiposo, componentes lipídicos de la sangre y en la leche.(67) Se han detectado niveles de este metabolito del DDT en el 80-100% de la población.(31;83-86) Actualmente, la principal fuente de exposición en los países occidentales es a través de los alimentos, debido a su bioacumulación en la cadena trófica.(87;88) Otras formas de exposición incluyen la ocupacional y la medio ambiental.(83)

Se ha observado que los niveles de DDE en humanos han disminuido a lo largo del tiempo.(25;89-94) Asimismo, en nuestro trabajo hemos encontrado niveles en tejido adiposo entre las mujeres europeas mucho más bajos que los informados hace más de 10 años;(87) este hallazgo es consistente con un descenso de los mismos como consecuencia de la prohibición del uso del DDT en los países desarrollados.

Estudios nacionales que comparaban los resultados obtenidos con los informados previamente en la misma región, también reflejaban una tendencia temporal decreciente de los niveles aunque no significativa. Así, un estudio desarrollado en Barcelona obtenía concentraciones de DDE en tejido adiposo de 8,06 µg/g y 6,98 µg/g durante los períodos 82-83 y 87-88, respectivamente.(45)

Otro estudio longitudinal realizado entre las mujeres Flix (Tarragona), que comparaba mediciones en suero de compuestos organoclorados obtenidas en 1994 (2,6 ng/ml) con las del período 97-99 (2,0 ng/ml), observaron una disminución de los niveles de DDE, que tampoco fue estadísticamente significativa.(95)

Una revisión de los estudios que analizaban niveles de DDT y DDE en tejidos humanos de diferentes países, encontró diferencias entre África, Asia y América Latina, que presentaban una exposición más reciente a estos compuestos, con respecto a Europa y América del Norte, donde se prohibieron en los años 70.(96) También se han detectado estas sustancias en poblaciones alejadas de fuentes contaminantes, como en las regiones árticas, posiblemente transportadas por las corrientes de aire y agua, presentando incluso niveles más elevados de organoclorados que en poblaciones de países industrializados.(32)

En los últimos 15 años, varios estudios han valorado las concentraciones de DDE en tejido adiposo de poblaciones occidentales. En la tabla 27 se describen estudios internacionales que han examinado este compuesto en tejido adiposo. Entre los estudios de casos y controles incluidos, se presenta el valor de éstos últimos, ya que en los casos los niveles podrían haber resultado modificados por la enfermedad que presentaban. Otros trabajos de ámbito nacional también aportan mediciones de DDE en tejido adiposo (tabla 28).

**Tabla 27. Descripción de estudios internacionales que han medido niveles de DDE en tejido adiposo humano**

País Año publicación	Período muestreo	Población			Media DDE (µg/g)	Muestra
		N	Edad Media	Sexo		
Canadá(94) (1990)	85	27	ND	M	0,72*	Autopsias
		81	ND	V	0,84*	
		108	ND	V y M	0,81*	
Polonia(97) (1994)	89-92	135	ND	M	5,00	Pacientes Quirúrgicos
		142	ND	V	6,26	
		277	ND	V y M	5,75	
Groenlandia(32) (1999)	92-94	26	ND	V y M	3,19*	Autopsias
Canadá(98) (2000)	99	213	53,9	M	0,60*	Biopsia mama
EEUU(99) (2000)	95-96	73	42,7	M	0,71	Pacientes Quirúrgicos
EEUU(59) (1999)	94-97	186	52,6	M	0,78*	Pacientes Quirúrgicos
EEUU(58) (2000)	94-96	323	ND	M	0,37†	Pacientes quirúrgicos
Canadá(100) (2001)	95-97	213	53,9	M	0,60*	Biopsia mama
Finlandia(101) (2001)	ND	10	75	M	0,88	Autopsias
		17	62	V	0,38	
		27		V y M	0,57	
Bélgica(102) (2002)	2000	20	47,2	V y M	0,28†	Autopsias
EEUU(61) (2004)	69-83	481	50,0	V y M	5,75	Autopsias Pacientes quirúrgicos
Suecia(103) (2004)	97-98	39	61,0	M	0,39	Pacientes quirúrgicos

ND: no disponible; V: varones; M: mujeres; \*Media geométrica; † Mediana  
Las concentraciones de DDE se expresan en µg/g

**Tabla 28. Descripción de estudios nacionales que han medido niveles de DDE en tejido adiposo humano**

Ciudad Año publicación	Período muestreo	Población			Media DDE (µg/g)	Muestra
		N	Edad	Sexo		
Lérida(104) (1989)	85-87	87	ND	M V V y M	5,05* 4,13* 4,28*	Autopsias
Zaragoza(43) (1992)	88-89	36 104 140	ND ND ND	M V V y M	2,11* 2,39* 2,18*	Autopsias
Lérida(45) (1993)	85-87	53	51	V y M	6,84	Autopsias
Barcelona(45) (1993)	87-88	68	57	V y M	6,98	Autopsias
Olot-Garrotxa(45) (1993)	86-88	50	54	V y M	3,73	Pacientes quirúrgicos
Tarragona(45) (1993)	87-88	85	55	V y M	6,03	Pacientes quirúrgicos
Madrid(38) (1994)	89-90	40	ND	ND	8,49	ND
Navarra(105) (1995)	91	86	ND	V y M	3,93	Pacientes quirúrgicos
Lérida(106) (1995)	89-94	77	ND	V y M	5,11	Autopsias
Granada(107) y Almería (2004)	96-98	260	56,8	M	0,31*	Pacientes quirúrgicos
Granada(83) y Almería (2004)	ND	200	53	M	0,51	Pacientes quirúrgicos
Murcia(108) (2005)	ND	89	49,6	V y M	4,12	Pacientes quirúrgicos

ND: no disponible; V: varones; M: mujeres; \*Media geométrica  
Las concentraciones de DDE se expresan en µg/g

El valor detectado en nuestro estudio para el centro de Málaga (3,34 µg/g) es ligeramente inferior a la mayoría de los publicados de otras regiones españolas, en los que la recogida de datos se realizó durante un período similar (ver tabla 28). Sin embargo, un estudio reciente de casos y controles realizado en Granada y Almería, que examina si los efectos combinados de los estrógenos ambientales son un factor de riesgo para el cáncer de mama, muestra una concentración de DDE de 0,31 µg/g, muy inferior a la encontrada por nosotros.(107) Este hecho, puede estar indicando una tendencia a la disminución en el tiempo de este compuesto en nuestro país, puesto que la recogida de datos se realizó en años posteriores al nuestro o bien ser debido a las diferentes características de la población estudiada, tanto geográficas como demográficas o personales (ya que incluyeron mujeres entre 35 a 70 años con hábitos dietéticos o cadena alimentaria potencialmente menos contaminada).

Encontramos que los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres en Málaga fueron mayores que en los otros centros donde se desarrolló el estudio. Aunque las mujeres de Málaga tenían significativamente más sobrepeso que las mujeres de los otros centros de estudio, no encontramos que el IMC estuviera relacionado con los niveles de DDE. En 1971, el uso del DDE fue restringido en España y en 1975 fue prohibido su uso fitosanitario (no mucho más tarde que en otros países europeos).(31;96) Los niveles mayores de DDE entre los españoles pueden deberse al uso de DDT en países vecinos para el control de vectores (actualmente se usa en países de África como Marruecos,(86) o la importación

de alimentos de países donde todavía se usa el DDT), a las distintas prácticas dietéticas, además de emplearse en la fabricación del herbicida dicofol que todavía se produce en España.(31;83;86)

La comparación de nuestros resultados con los de otros estudios resulta difícil por la gran diferencia que hay entre regiones, número de sujetos analizados, características de la población, períodos de estudio, métodos de análisis del DDE, etc. Serían necesarias más investigaciones para explicar las diferencias geográficas del DDE a través de Europa, con una metodología homogénea, en población general sana, en distintos grupos de edad y sexo, incluyendo información sobre ocupación, dieta, historia de lactancia, etc.

Nuestro estudio presenta valores de DDE correspondientes a varios países europeos en un mismo trabajo y obtenidos mediante la misma metodología, utilizando muestras de tejido adiposo para cuantificar la exposición. El tejido adiposo es el mejor indicador de la exposición ambiental a DDE en humanos.(22) Además, contiene niveles más elevados que el suero siendo más fácil observar las diferencias encontradas y muestras pequeñas presentan niveles detectables.(59;100)



Determinados estudios epidemiológicos y experimentos con animales, sugieren que efectos adversos tales como alteraciones en el metabolismo, desarrollo y sistema reproductivo, pueden ocurrir con el nivel de exposición actual. Por este motivo, es importante llevar a cabo acciones para reducir la exposición a estas sustancias, que se produce sobre todo a través de la dieta, y proteger especialmente a las personas más vulnerables como mujeres embarazadas, lactantes, habitantes de zonas más expuestas a estos compuestos, etc. Así como, monitorizar los niveles de éstos y otros compuestos tóxicos para tomar medidas precozmente antes de que aparezcan efectos sobre la salud.(90;109)

## **5.2. Determinantes de la concentración de DDE en tejido adiposo en mujeres postmenopáusicas europeas**

Tanto a nivel nacional como internacional se han encontrado residuos de DDE en numerosos alimentos.(38-40;110;111) En diferentes publicaciones se ha propuesto que las principales fuentes de exposición al DDE son probablemente el consumo de pescado, carne y leche.(19;21) Sin embargo, también se han encontrado residuos de DDE en frutas y vegetales.(110)

Para conocer las posibles fuentes de exposición dietética en los sujetos de este estudio se ha evaluado la asociación entre DDE y biomarcadores nutricionales en tejido adiposo (ácidos grasos y antioxidantes).

### **5.2.1. Ácidos grasos**

Una breve revisión del tema nos permite recordar que la mayoría de los AG del tejido adiposo procede de la dieta. Así, algunos autores han encontrado correlaciones significativas entre los AG oleico, linoléico,  $\alpha$ -linolénico y los AG omega 6 de la dieta y tejido adiposo.(112) El 80% aproximadamente de la grasa está constituida en orden de frecuencia por los ácidos oleico, palmítico, linoléico y palmitoléico. Sin embargo, se pueden determinar más de 40 AG, de los cuales algunos están en muy pequeñas cantidades; pero tienen un gran interés. Unos

son precursores de las prostaglandinas o de otros importantes compuestos, mientras que otros indican el consumo de determinados tipos de alimentos. Por tanto, la medida de estos AG podría utilizarse para relacionar la composición del tejido adiposo con los hábitos dietéticos.(22;113;114)

Los AG insaturados contienen uno o más dobles enlaces en su cadena hidrocarbonada. Según el número de estos dobles enlaces se les clasifica como monoinsaturados (AGM) y poliinsaturados (AGP). Entre los AGM, el más común es el ácido oleico, presente en gran cantidad en el aceite de oliva y en muchos otros aceites vegetales, también es el más abundante en grasas animales.(76;115)

Dentro de los AGP, las familias omega-3 y omega-6 son las más importantes. Los mamíferos carecen de los sistemas enzimáticos necesarios para introducir dobles enlaces en las posiciones omega-3 y omega-6 de la cadena hidrocarbonada, por lo que son incapaces de sintetizar los AG de estas series. Estos AG deben obtenerlos de la dieta, y se les denomina ácidos grasos esenciales. Actualmente, se acepta que hay sólo dos AG esenciales:  $\alpha$ -linolénico y linoléico, los cuales pueden ser modificados, pero nunca sintetizados, por los tejidos animales. Una vez ingeridos, se metabolizan principalmente en el hígado, para formar otros ácidos omega-3 y omega-6, que son los precursores de las prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos, además forman parte de todas las membranas celulares.(76;112;115)

El AG más importante dentro de la familia omega-3 es el  $\alpha$ -linolénico y constituye el principal componente de los aceites de soja y linaza. A la misma familia pertenece el ácido docosahexaenoico (DHA) presente en la mayoría de los aceites de pescado y algas marinas.(116) El DHA es un componente habitual de los lípidos de membrana de la mayoría de los tejidos animales, y se encuentra en las vainas nerviosas. La familia omega-6 deriva del ácido linoléico, éste se encuentra en la mayoría de los aceites vegetales en elevadas proporciones y es el AG más abundante de los mamíferos donde constituye la principal fuente de ácido araquidónico.(76)

En este trabajo se examinaron las posibles asociaciones entre DDE y AG insaturados como el ácido oléico y los poliinsaturados pertenecientes a la familia de AG omega-3 (ácidos  $\alpha$ -linolénico y docosahexaenoico) y omega-6 como el ácido linoléico,  $\gamma$ -linolénico y araquidónico.

Diversos estudios han asociado el consumo de pescado con altos niveles de DDE, como una importante fuente de exposición al mismo.(35;117) Un estudio noruego que valoraba los cambios producidos en plasma humano tras el consumo de un plato típico de pescado con alto contenido en compuestos organoclorados persistentes, entre los que el DDE era el compuesto más abundante, encontró que las concentraciones de DDE en plasma se modificaban

significativamente después de una comida rica en lípidos marinos.(118) En otro estudio canadiense que valoró la relación entre la concentración de DDE en la leche materna y el consumo de pescado, el nivel medio fue significativamente más pequeño entre las mujeres que nunca consumieron pescado que entre las que comían pescado más de una vez a la semana. Asimismo, el coeficiente de correlación entre DDE y el consumo de pescado como variable continua fue también significativo.(119)

Debido a que el ácido docosahexaenoico no se produce de forma endógena en los humanos, sus niveles son un buen marcador del consumo de pescado en la dieta.(116;120;121) A pesar de las fuentes dietéticas propuestas en otros estudios, nuestros datos indicaron sin embargo, que el consumo de pescado estaba sólo relacionado débilmente y no significativamente con los niveles de DDE. Por tanto, la falta de asociación entre los ácidos grasos omega-3 marinos y los niveles de DDE plantea la duda sobre la contribución del consumo de pescado en el incremento de la concentración de DDE en nuestra población. En un estudio estadounidense,(122) el consumo total de pescado en la dieta tampoco estaba asociado con el nivel de DDE sérico.

En este estudio se valoró también la posible asociación con diversos ácidos grasos saturados (AGS). Estos AG se caracterizan por la ausencia de dobles o triples enlaces en su cadena hidrocarbonada. Los más comunes e importantes contienen entre 12 y 22 carbonos. El ácido palmítico es el más

común de los AGS, y está presente en los aceites de pescado, aceites vegetales, leche y grasa de muchos mamíferos. El ácido esteárico es el segundo más frecuente, presente en la grasa de los rumiantes, en la carne de vacuno y en los productos lácteos. El mirístico se encuentra en la leche bovina y humana. Otros AGS como C15:0 y C17:0 se han correlacionado con el consumo de productos lácteos.(115;116) Los AGS de cadenas más largas ( $\geq 20$ ) se encuentran en cantidades importantes en aceites de semilla poco frecuentes.(76;113)

Los ácidos grasos presentes en la carne y en la leche no son lo suficientemente diferentes de los que se producen endógenamente para que sus niveles en tejido adiposo sean un buen marcador de consumo; por tanto, nosotros no pudimos explorar la contribución del consumo de carne y leche en los niveles de DDE.

La asociación dietética entre los AGS más fuerte fue la asociación inversa del ácido araquídico (C20:0) con el DDE. El ácido araquídico se encuentra en todos los tipos de grasas comestibles y aceites, pero no hay una fuente específica del mismo.(123) La cantidad de C20:0 en las grasas vegetales y aceites se encuentra en un rango de 0,5 a 1 gr. por 100 gr. de ácidos grasos, y de 1 a 2 gr. por 100 gr. de ácidos grasos en grasas animales. Además, el contenido de C20:0 en los aceites de pescado es bajo (0,2 a 0,3 gr. por 100 gr. de ácidos grasos), y una relación fisiológica entre el consumo de aceites de

pescado y el C20:0 en tejido adiposo es improbable. Un estudio que analizaba la relación entre AG en tejido adiposo y dieta, evaluada mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos encontró una correlación entre el C20:0 y las grasas vegetales.(116) Así, es improbable que el C20:0 sea un marcador de consumo de cualquier grasa o alimento específico. Dado que el estudio no contempló la evaluación explícita del consumo de alimentos, no pudimos examinar la relación de C20:0 con diferentes fuentes de alimentos entre nuestros sujetos.(124)

Los AG trans en tejido adiposo también se han propuesto como buenos biomarcadores de sus correspondientes AG dietéticos.(116) Los alimentos que se han relacionado con el contenido de AG trans en tejido adiposo son el aceite de soja y la margarina, principalmente. Aunque en nuestros datos las asociaciones crudas de estos AG con el DDE fueron significativas ( $p = 0,0001$ ), sin embargo esta asociación desapareció al ajustar por edad y centro ( $p = 0,42$ ).

### **5.2.2. Antioxidantes o vitaminas**

En nuestro trabajo se han estudiado diferentes antioxidantes o vitaminas como posibles determinantes de la concentración de DDE en el organismo. A continuación, expondremos brevemente los alimentos en los que se encuentran con más frecuencia estos nutrientes.

Los carotenoides son antioxidantes que se encuentran principalmente en frutas y vegetales. Las zanahorias proporcionan aproximadamente el 70% del total de  $\alpha$ -caroteno que consumimos. El tomate, sus derivados y la sandía son productos ricos en licopeno, también se encuentra en otros frutos y vegetales. (125-127) El consumo de productos como albaricoques, zanahorias o espinacas entre otros constituyen una fuente de  $\beta$ -caroteno, también se han correlacionado los niveles de este carotenoide en tejido adiposo con alimentos como el pimiento verde. (128) (129)

Los tocoferoles (vitamina E) son potentes antioxidantes que protegen a los lípidos y otros componentes de las células del daño producido por la oxidación.(130) Esta vitamina se concentra en muchos aceites y grasas vegetales.(131) El  $\gamma$ -tocoferol se encuentra en mayor cantidad en aceites de maíz, soja y frutos secos;(132) en tanto que el  $\alpha$ -tocoferol predomina en los aceites de oliva y girasol. Además de las frutas y vegetales hay otras fuentes adicionales de vitamina E como los cereales del desayuno, huevos y frutos secos.(127)

El retinol se almacena en el hígado y se puede consumir a partir de los alimentos de origen animal, directamente como retinol (vitamina A preformada) u obtenerse de la conversión de los carotenos en el organismo.(127;130) Los retinoides no tienen capacidad antioxidante, pero han sido de interés en relación con el cáncer debido a su potencial efecto sobre la diferenciación celular.(22)



Nuestros análisis mostraron que la concentración de retinol en tejido adiposo estaba relacionada con el nivel de DDE, aunque el significado de esta asociación no está claro. El consumo de hígado explica gran parte de la variación entre las personas de vitamina A preformada,(133) y el hígado es probablemente una buena fuente de DDE. Sin embargo, el consumo de vitamina A preformada no fue el principal determinante de la concentración de retinol adiposo en un estudio;(134) por tanto, otros determinantes del nivel de retinol adiposo, desconocidos todavía, pueden explicar la asociación observada.

### **5.2.3. Otros determinantes**

El lugar de estudio fue el determinante más importante de DDE en tejido adiposo, debido principalmente a los niveles más elevados en Málaga. Asimismo, en otros estudios el país de nacimiento de la población se estableció como predictor de las concentraciones de organoclorados.(68)

Los resultados de este trabajo son directamente generalizables sólo a mujeres de los países occidentales.(124) La razón para esta limitación es el hecho de que el DDT está siendo todavía usado o ha sido prohibido sólo recientemente en países con malaria endémica, y los hombres pueden tener diferente distribución de ácidos grasos o vitaminas antioxidantes.

El índice de masa corporal sirve como medida del reservorio de grasa corporal. Los organoclorados no metabolizados son almacenados en la grasa y en una población de consumo similar, las mujeres con más tejido adiposo tendrían determinaciones más bajas de los niveles de estos compuestos y una vida media de eliminación más larga.(68)

En nuestros datos aunque la asociación cruda entre DDE y el índice de masa corporal resultó significativa, al ajustar por edad y centro no se determinó evidencia de asociación. Este dato es asimismo compatible con otros estudios que tampoco encontraron relación con el IMC.(67;68;135)

#### **5.2.4. Limitaciones y aportaciones del estudio en relación a los determinantes de la concentración de DDE**

Varios factores pueden haber limitado el poder de nuestro estudio para detectar asociaciones entre los biomarcadores de consumo y niveles de DDE en tejido adiposo. En primer lugar, no disponemos de medidas repetidas de tejido adiposo, y éstas están sujetas a varios tipos de errores aleatorios, incluyendo errores en las medidas de laboratorio y a la variabilidad intrasujeto. En segundo lugar, la vida media del DDE es mucho más larga que la vida media de los ácidos grasos o vitaminas antioxidantes (típicamente entre 1 y 3 años).(136) Las determinaciones de DDE y de ácidos grasos y antioxidantes pueden, por tanto, reflejar diferentes períodos de tiempo de exposición, resultado de lo cual sería

la atenuación de las potenciales asociaciones. En tercer lugar, el estudio EURAMIC se dirigió a obtener muestras representativas de las poblaciones de estudio usando muestras aleatorias de registros poblacionales. Sin embargo, en Zeist, Coleraine y Málaga, las participantes fueron muestreadas aleatoriamente de las listas de pacientes de médicos generales. El potencial afecto que haya tenido este tipo de muestreo (en las estimaciones poblacionales más que en el examen de efectos) es incierto. En cualquier caso, los resultados no fueron significativamente diferentes para los centros que usaron muestras de la población general o de los pacientes de médicos generales. Aunque los participantes de Málaga tenían los niveles más elevados de DDE, la asociación con biomarcadores de consumo fue similar después de la exclusión de este centro de los análisis.

Una investigación realizada en una población de hombres y mujeres alemanes de entre 65 y 75 años para analizar asociaciones entre el consumo de diferentes alimentos y concentraciones plasmáticas de organoclorados, tan sólo encontró una correlación positiva significativa entre el DDT plasmático y la carne de ternera y de cordero.(137) Otro estudio que tenía como objetivo identificar predictores de los niveles de DDE en plasma en mujeres americanas, pertenecientes al grupo control de un estudio de casos y controles anidado en el *Nurses' Health Study*, encontraron como predictores de DDE la edad, el colesterol y la región de estudio. Sin embargo, no observaron ninguna relación entre el consumo de diferentes grupos de alimentos evaluados por encuestas

alimentarias (carne, pescado, aves, productos lácteos, frutas, vegetales y cereales) y los niveles de DDE.(67)

En un estudio realizado para determinar los residuos de compuestos orgánicos persistentes (COP) en los alimentos, se encontró que el DDE es el COP que se halla con mayor frecuencia, distribuyéndose en todas las categorías de alimentos (frutas, vegetales, carne, aves, pescados y productos lácteos).(110) En nuestros sujetos, los biomarcadores de consumo de pescado u otros biomarcadores de consumo se correlacionaron sólo débilmente con el DDE consistente con la distribución de DDE en diferentes alimentos.

Hay que tener en cuenta que en nuestro estudio se han utilizado las concentraciones de ácidos grasos y antioxidantes en tejido adiposo como biomarcadores de exposición dietética a largo plazo. El tejido adiposo refleja exposiciones pasadas y constituye un depósito relativamente estable de diferentes ácidos grasos y otras sustancias solubles en grasa como vitaminas y pesticidas.(22) Las concentraciones de estos indicadores en plasma o suero reflejarían el consumo de los días o semanas previos. Otro modo de evaluar el consumo de alimentos sería a través de cuestionarios o entrevistas, pero el uso de las tablas de composición de alimentos puede dar lugar a errores a consecuencia de las grandes variaciones en el contenido de nutrientes de algunos alimentos. Además este tipo de métodos no tienen en cuenta la variación individual en la absorción y metabolismo.(69)

**5.3. Evaluación de la asociación entre los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres postmenopáusicas de la población de estudio y factores reproductivos:**

**1- Edad de la menopausia**

**2- Número de hijos**

**5.3.1. Edad de la menopausia y niveles de DDE**

La menopausia natural se define como el cese permanente de la menstruación como resultado de la pérdida de actividad folicular ovárica.(138) Algunos autores han propuesto que mujeres con una menopausia temprana presentan más riesgo de enfermedad cardiovascular(139) y osteoporosis, así como de mortalidad por todas las causas y la relacionada con cáncer.(140;141) Estos efectos se deben probablemente a la duración de la exposición al nivel de estrógenos circulantes que producirían diferentes resultados según su relación con cada una de las enfermedades en particular.(141)

Diversos estudios han encontrado asociación entre varios factores reproductivos, de estilo de vida y demográficos (ciclos menstruales irregulares o < 26 días, historia familiar de menopausia temprana, nuliparidad, edad de menarquia temprana ( $\leq 11$  años), hábito de fumar, bajo nivel socioeconómico, no usar ACO, raza afro-americana, etc.) y una reducción de la edad de la

menopausia de 1 a 2 años.(138) Sin embargo, pocos autores han analizado la relación entre pesticidas organoclorados y edad de la menopausia natural.(142;143)

#### **5.3.1.1. Niveles de DDE**

El posible efecto del DDE sobre la edad de la menopausia podría deberse a su actividad como bloqueante androgénico.(55) Ésta podría dar lugar a una disminución del desarrollo folicular y a un incremento de la apoptosis y atresia folicular.(144) El efecto disruptor endocrino de este compuesto podría dañar los ovarios o causar efectos adversos debido a la exposición crónica al DDE que se almacena en tejido adiposo y se encuentra en el fluido folicular ovárico a niveles similares a las concentraciones séricas.(142)

La media de edad de la menopausia natural documentada en la población europea y estadounidense se encuentran en un rango de 48 a 52 años.(138) Un estudio que examinó la asociación entre edad de la menopausia y mortalidad, basándose en datos del “First Nacional Health an Examination Survey” (NHANES I) en población estadounidense, obtuvo una edad media de menopausia de 48 años.(140) En otro estudio realizado entre una población de mujeres hispanas en EEUU la edad media de la menopausia fue de 48,1 años.(142)

La media de edad global de la menopausia natural obtenida en nuestro estudio ajustada por edad al inicio del mismo y centro de reclutamiento fue de 49,55 años, similar a la aportada por otros trabajos.(138) El centro irlandés presentaba la menopausia más temprana (48,72 años), mientras que la menopausia más tardía se producía en el centro suizo a los 50,65 años de media.

Un estudio que describe la variabilidad internacional en factores reproductivos encontró que la mediana de edad de la menopausia se produjo a los 50 años con un rango entre los 49 y 52 años en los distintos centros.(145) Otro trabajo realizado en EEUU, el “Study of Women’s Health Across the Nation”, informó una mediana para la edad natural de la menopausia ajustada por diversas variables de 51,4 años.(141) En nuestros datos, la mediana de la edad de la menopausia fue de 50 años, similar a los resultados anteriormente comentados.

Los trabajos que han analizado la relación entre menopausia y DDE, no presentan datos consistentes. Una publicación en el que la población seleccionada proviene de un estudio de casos y controles de cáncer de mama realizado en Carolina del Norte (EEUU) sugiere que cantidades elevadas de DDE en el organismo podrían asociarse con un comienzo más temprano de la edad de la menopausia de hasta 1 año.(144) Sin embargo, los resultados que obtuvieron se encuentran en el límite de la significación aunque presentaban un

cierto gradiente al comparar los percentiles más elevados de la distribución de DDE con valores por debajo de la mediana.

Otro estudio realizado entre tres subgrupos de población hispana de EEUU, datos del “Hispanic Health and Nutrition Examination Survey” (HHANES), evaluó la asociación entre edad de la menopausia y determinados pesticidas organoclorados y sus metabolitos, entre ellos el DDT y DDE.(142) Las mujeres con los niveles de exposición más elevados (DDT sérico  $\geq 6$  ppb) mostraban una media ajustada de edad de menopausia 5,7 años menor que las que tenían los niveles de pesticidas más bajos (por debajo del límite de detección). Sin embargo, para los niveles de DDE séricos en el quintil más alto ( $\geq 23,60$  ppb), comparado con el más bajo, encontraron una disminución de la edad no significativa de 1,7 años. Tampoco encontraron un efecto consistente dosis-respuesta entre las distintas categorías.

Por otra parte, otro estudio estadounidense que valoraba la relación entre las concentraciones de pesticidas organoclorados y cáncer de mama en tejido adiposo no encontró correlación entre el DDE y la edad de la menopausia.(58)

Nuestros resultados muestran para el global de los datos una tendencia no significativa entre los terciles de DDE. Sin embargo, en Málaga que presentaba el nivel de DDE más elevado, se encontró una edad de inicio de la menopausia natural para el último tercil de DDE ajustada por edad al inicio del



estudio de 47,80 años, menor que la que presentaban los terciles inferiores mostrando una  $p$  de tendencia significativa ( $p = 0,03$ ). Asimismo, los coeficientes de correlación global y de los centros de Zürich y Málaga fueron negativos, aunque tan sólo este último estaba próximo a la significación. Tampoco en el análisis multivariante se encontró una asociación significativa con el DDE.

### **5.3.1.2. Hábito de fumar**

Una revisión la literatura publicada hasta ese momento, indicaba que la media o la mediana de edad de la menopausia se iniciaba entre 0,8 y 1,7 años antes entre las fumadoras en el momento del estudio que entre las que no fumaban. Además describen una tendencia hacia una menopausia más temprana con el incremento del número de cigarrillos fumados.(146) Estudios posteriores también han confirmado el hábito de fumar como factor de riesgo para la menopausia temprana, informando del cese de la menstruación 1-2 años antes en las fumadoras con respecto a las que nunca fumaron.(141;147-149) Sin embargo, alguno de estos estudios no observaron disminución en la edad de la menopausia entre las ex-fumadoras, fumadoras pasivas, ni efecto dosis-respuesta entre las fumadoras actuales.(141;148)

El análisis de la relación entre diferentes variables reproductivas y de estilo de vida y la edad de la menopausia en nuestra investigación, mostró que las fumadoras actuales presentaban una media para la edad de la menopausia

significativamente diferente a las de las no fumadoras. Aunque no encontramos una menopausia más temprana en función de la cantidad de cigarrillos consumidos. También en el análisis multivariante se asoció significativa e inversamente la variable fumadora actual con edad de la menopausia ( $p = 0,02$ ). La edad de menopausia que predice nuestro modelo para las fumadoras actuales presenta una disminución de 1,98 años con respecto a las no fumadoras, manteniendo constantes el resto de las variables incluidas en el modelo. Estos resultados respecto al hábito de fumar son consistentes con los descritos anteriormente por otros trabajos.

Se han propuesto varios mecanismos por los que el tabaco podría actuar sobre la menopausia. En primer lugar, un efecto tóxico directo de los hidrocarburos aromáticos policíclicos sobre los folículos ováricos.(150) En segundo lugar, interfiriendo en la secreción de las hormonas de la glándula pituitaria, como la hormona luteinizante que tiene efectos reguladores sobre el ciclo menstrual. Otro posible mecanismo, sería a través del aumento del metabolismo hepático de los estrógenos que puede originar el cese prematuro de la menstruación.(146;151)

### 5.3.1.3. Paridad

También hemos encontrado en este trabajo una asociación positiva entre paridad y edad de la menopausia ( $p = 0,06$ ). El mecanismo propuesto por el que la paridad favorece una menopausia tardía, sería a través de la disminución de los ciclos ovulatorios, preservando de esta forma los ovocitos por más tiempo.(141) Nuestro modelo predice que la edad de menopausia entre las mujeres que han tenido algún hijo presenta un aumento de 1,35 años con respecto a las nulíparas, manteniendo constantes el resto de las variables incluidas en el modelo.

Algunos artículos también han descrito una asociación entre un incremento en el número de hijos y una edad más tardía de la menopausia natural.(147;152;153) Sin embargo, al igual que lo publicado por otros autores, nosotros no hemos observado diferencias en función del número de hijos.(154;155)

### 5.3.1.4. Otros

En nuestro estudio el análisis de la menopausia en relación con el uso de anticonceptivos orales, no proporcionó evidencia de asociación, resultados similares fueron publicados en otros estudios.(147;153;154)

Tampoco encontramos relación entre otras variables analizadas como edad de la menarquia, comparable a lo que ocurría en otros trabajos.(152) Sin embargo, son inconsistentes con los datos publicados por otros estudios.(154)

Aunque algunos estudios han observado una menopausia más temprana a menor IMC.(156) En nuestros datos el IMC no se relacionó con la edad de la menopausia, otros trabajos también han obtenido resultados parecidos.(141;147) El mecanismo por el cual en las mujeres obesas podría retrasarse la menopausia se explicaría por la producción de estrona en tejido adiposo, que resultaría en niveles más elevados de estrógenos circulantes, lo que podría contribuir a un funcionamiento reproductivo más largo. Por otro lado, la obesidad también se ha asociado con una inadecuada función ovárica.(141)

#### **5.3.1.5. Limitaciones y aportaciones del estudio relativo al examen de edad de menopausia y niveles de DDE**

Entre las limitaciones del estudio se encontrarían el grado de fiabilidad de los datos sobre edad de la menopausia obtenida por medio de entrevista, teniendo en cuenta que habían transcurrido 13 años de media desde la menopausia hasta la realización de la encuesta.(157) Sin embargo, estudios previos han demostrado la fiabilidad y validez de los datos sobre la historia reproductiva obtenidos por entrevista comparados con la información obtenida de las historias clínicas como medida estándar.(158) Estudios de

reproducibilidad han demostrado que las mujeres occidentales tienen una memoria bastante precisa de los principales sucesos reproductivos.(145)

Por otra parte, las exposiciones medidas en el tiempo de muestreo podrían no representar el nivel de exposición en el momento de la menopausia por cambios en la exposición, en el metabolismo o en la eliminación de esta sustancia.(142) El daño folicular ocasionado por el DDE podría haberse producido años antes de la menopausia donde las concentraciones de esta sustancia habrían sido más elevadas. Para evitar el posible efecto de la eliminación de estos compuestos a través de la lactancia y de la placenta, en nuestros datos hemos tenido en cuenta la paridad en el ajuste. Además, en nuestro estudio se utilizaron muestras de tejido adiposo que permiten una mejor evaluación de la exposición a largo plazo a diferencia de otro tipo de muestras.

Entre las aportaciones que presenta este estudio, se encuentran la determinación de la edad media de la menopausia entre población europea de países muy diversos, además de la evaluación de ciertos factores ambientales, como el DDE, en relación con la menopausia que se han considerado en pocos trabajos. También se han incluido factores como el consumo de alcohol, edad de la menarquia, uso de anticonceptivos orales o terapia de reemplazamiento hormonal que analizan sólo algunos de los estudios sobre menopausia.

### 5.3.2. Número de hijos y niveles de DDE

La movilización de la grasa desde el tejido adiposo a la leche materna, debido al elevado contenido de grasa de la misma, sería el mecanismo por el que se produciría la transferencia de los organoclorados durante la lactancia. Por este motivo, algunos autores han afirmado que los niveles en la leche son un reflejo los niveles acumulados en tejido adiposo.(90) Por tanto, la lactancia sería una importante vía de excreción que disminuiría la concentración corporal del DDE en mujeres.(159;160)

Algunos estudios han asociado una disminución en los niveles de DDE en la leche materna con el aumento del número de niños y la duración de la lactancia.(161-164) Por tanto, la paridad podría ser un indicador de la duración de la lactancia pasada y un importante factor para predecir las concentraciones de organoclorados en la leche.(119;160) Además, también se ha descrito el paso de DDE a través de la placenta como otra vía de eliminación de este compuesto.(41;42;165) Puesto que la lactancia no fue medida en el estudio EURAMIC,(20) utilizamos el número de hijos para evaluar sus efectos sobre los niveles de DDE.

Contrariamente a lo esperado, no observamos que las mujeres con mayor número de hijos tuvieran niveles más bajos de DDE en tejido adiposo como consecuencia de una mayor excreción de esta sustancia. El tiempo transcurrido en estas mujeres postmenopáusicas desde el nacimiento de los hijos hasta la recogida de los datos puede haber disminuido esta asociación.(124)

Estos resultados son consistentes con los proporcionados por investigaciones realizadas tanto entre población española como europea, en los que no se correlacionó el contenido de DDE en la leche materna y el número de hijos.(117;159) Otro estudio realizado en Canadá, en el que se evaluaron las concentraciones de DDE en la leche de una muestra de la población general, sólo la duración de la lactancia, pero no la paridad, presentaba una relación inversa estadísticamente significativa.(119) Tampoco se relacionó la paridad con los niveles de DDE en una población de mujeres americanas que estudiaba los predictores de este compuesto en plasma.(67)

## **6. CONCLUSIONES**



1. En este estudio multicéntrico en el que hemos intentado a través de muestras de tejido adiposo examinar la concentración de DDE de población femenina postmenopáusica, el centro de reclutamiento o lugar de estudio resultó ser el determinante que más influyó en la variabilidad de dicha concentración.
2. Específicamente, los niveles de DDE en tejido adiposo de mujeres en Málaga fueron mayores que en los otros centros de nuestra investigación (Berlín, Zeist, Coleraine y Zürich), aunque se encontraron dentro del rango de estudios realizados en España en ese mismo período.
3. En nuestro estudio, los biomarcadores de consumo de pescado y aquellos biomarcadores de ingesta de nutrientes se correlacionaron sólo débilmente con el DDE.
4. El ácido araquídico y el retinol se relacionaron con el DDE, aunque no se ha hallado un nexo de especificidad de dichos nutrientes en relación con algún alimento explicativo de dicha asociación.
5. Estos resultados sugieren la posibilidad de la contribución de diferentes alimentos en la bioacumulación de DDE, debido a la amplia contaminación de la cadena alimentaria.

6. Es importante el conocimiento de factores ambientales o de estilos de vida potencialmente modificables, que afecten a una aparición más temprana de la edad de la menopausia, incluyendo el fundamento de sus mecanismos de acción.
7. La edad de la menopausia disminuyó entre fumadoras actuales y en nulíparas, pero no se encontró una asociación entre edad de menopausia y niveles de DDE en tejido adiposo de los sujetos de estudio.
8. Aunque algunos trabajos han sugerido la posibilidad de que las madres con más número de hijos tengan menores niveles de DDE, debido a la disminución por la progresiva movilización a través de la lactancia, en nuestro estudio no se ha constatado dicha asociación inversa.
9. Se deberían realizar más *investigaciones* para explicar las diferencias geográficas del DDE a través de Europa. Además, sería aconsejable realizar *mediciones periódicas* en muestras representativas de la población general de los países europeos, para determinar la evolución de las concentraciones a lo largo del tiempo y conocer los valores de DDE en otros grupos de población según zonas geográficas, edad, sexo, ocupación, hábitos alimentarios, embarazadas, lactantes, etc. De este modo, obtener más datos para estudiar su posible relación con procesos crónicos.

10. Es imprescindible hacer un llamamiento para que se apliquen con rigor los acuerdos internacionales en materia de contaminantes orgánicos persistentes porque sólo a través de la aplicación de dichos acuerdos se garantizará la eliminación de los compuestos persistentes y se encontrarán alternativas definitivas al DDT que sean seguras, efectivas y económicamente sostenibles.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

- (1) Espigares M, Fernández-Crehuet M, Moreno O. Aspectos sanitarios de los plaguicidas. Desinsectación y desratización. En: Gálvez R, Sierra A, Sáenz MC, Gómez LI, Fernández-Crehuet J, Salleras L et al, directores. Medicina Preventiva y Salud Pública. 10ª ed. Barcelona: Masson; 2002. p. 425-433.
- (2) Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A. Organochlorine pesticides. Toxicology 2000;143:61-75.
- (3) Olea N, Fernández MF. Plaguicidas persistentes [ponencia]. En: Implementación del Convenio de Contaminantes Orgánicos Persistentes; Madrid, 26-27 de noviembre de 2001. [fecha de acceso 9 de abril de 2003] Madrid: ISTAS; 2001. URL disponible en: <http://www.istas.net/portada/cops10.pdf>
- (4) Dich J, Hoar S, Hanberg A, Adami HO. Pesticides and cancer. Cancer Causes Control 1997;8:420-443.
- (5) Real Decreto 3349/1983 de 30 de noviembre, por el que se aprueba la Reglamentación técnico-sanitaria para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas. (Boletín Oficial del Estado, número 20, de 24-01-84).

- (6) Directiva 98/8/CE de 16 de febrero, relativa a la comercialización de biocidas. (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L 123, de 24-04-98).
- (7) Real Decreto 1054/2002 de 11 de octubre, por el que se regula el proceso de evaluación para el registro, autorización y comercialización de biocidas. (Boletín Oficial del Estado, número 247, de 15-10-02).
- (8) Ministerio de Sanidad y Consumo. Legislación: Reglamentación Técnico-Sanitaria de plaguicidas. Normas para la clasificación, envasado y etiquetado. Directiva de Biocidas. En: Guía de buenas prácticas para la utilización de plaguicidas de Salud Pública. Uso ambiental y en la industria alimentaria. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2001. p. 21-34.
- (9) Hurst P, Hay A, Dudley N. Information on pesticides. En: Hurst P, Hay A, Dudley N, editores. The pesticide handbook. London: Journeyman Press; 1991. p. 33-49.
- (10) Piédrola G, Lasheras A, Cruzet F. Desinsectación y desratización. En: Piédrola G, del Rey J, Domínguez M, Cortina P, Gálvez R, Sierra A et al, editores. Medicina Preventiva y Salud Pública. 9ª ed. Barcelona: Masson-Salvat Medicina; 1992. p. 319-333.
- (11) de la Iglesia A, Delgado P. Plaguicidas: Neurotoxicidad y vigilancia de la salud. Prevención, Trabajo y Salud 2000;8:4-14.

- (12) Real Decreto 255/2003 de 28 de febrero, por el que se aprueba el Reglamento sobre clasificación, envasado y etiquetado de preparados peligrosos. (Boletín Oficial del Estado, número 54, de 04-03-03).
- (13) Real Decreto 363/1995 de 10 de marzo, por el que se aprueba el Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas. (Boletín Oficial del Estado, número 133, de 05-06-95).
- (14) Orden PRE/2317/2002 de 16 de septiembre, por la que se modifican los anexos I, II, III, IV, V, VI, VII y VIII de Reglamento sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas, aprobado por el Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo. (Boletín Oficial del Estado, número 229, de 24-09-02).
- (15) World Health Organization (WHO). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and Guidelines to classification 2004. Geneva: World Health Organization; 2004.
- (16) Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta: CDC; 2003. [fecha de acceso 11 de septiembre de 2004]. URL disponible en: [http://www.cdc.gov/exposurereport/pesticides/organochlorine/pdf/sp\\_organochlorine\\_all.pdf](http://www.cdc.gov/exposurereport/pesticides/organochlorine/pdf/sp_organochlorine_all.pdf)

- (17) Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G. The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBs (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annu Rev Public Health* 1997;18:211-244.
- (18) King J. DDT [informe]. Washington: U.S. Environmental Protection Agency; 2003. [fecha de acceso 14 de abril de 2004]. URL disponible en: <http://www.unece.org/env/popsxg/docs/2000-2003/ddt.pdf>
- (19) International Agency for Research on Cancer (IARC). Occupational exposures in insecticide application and some pesticides. Lyon: IARC; 1991. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human: 53.
- (20) van 't Veer P, Lobbezoo IE, Martín-Moreno JM, Guallar E, Gómez-Aracena J, Kardinaal AFM et al. DDT and postmenopausal breast cancer in Europe: case-control study. *BMJ* 1997;315:81-85.
- (21) World Health Organization (WHO). DDT and its derivatives. Geneva: WHO; 1979. Environmental Health Criteria: 9.
- (22) Kohlmeier L, Kohlmeier M. Adipose tissue as a medium for epidemiologic exposure assessment. *Environ Health Perspect* 1995;103:99-106.



- (23) Dagher SM, Talhouk RS, Nasrallah SS, Tannous RI, Mroueh SM. Relationship of dietary intake to DDE residues in breast milk of nursing mothers in Beirut. *Food Addit Contam* 1999;16:307-312.
- (24) Gladen BC, Rogan WJ. DDE and shortened duration of lactation in a northern mexican town. *Am J Public Health*. 1995;85:504-508.
- (25) Craan AG, Haines DA. Twenty-five years of surveillance for contaminants in human breast milk. *Arch Environ Contam Toxicol* 1998;35:702-710.
- (26) Turusov V, Rakitsky V, Tomatis L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. *Environ Health Perspect* 2002;110:125-128.
- (27) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for DDT, DDE, and DDD. Atlanta: ATSDR, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services; 2002. [fecha de acceso 11 de abril de 2004]. URL disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp35-p.pdf>
- (28) Orden de 22 de marzo de 1971, por la que se prohíbe el empleo de los insecticidas agrícolas que contengan DDT. (Boletín Oficial del Estado, número 76, de 30-03-71).

- (29) Orden de 4 de diciembre de 1975, por la que se restringe el uso de ciertos plaguicidas. (Boletín Oficial del Estado, número 308, de 24-12-75).
- (30) Orden de 4 de febrero de 1994, por la que se prohíbe la comercialización y utilización de plaguicidas de uso ambiental que contienen determinados ingredientes activos peligrosos. (Boletín Oficial del Estado, número 41, de 17-02-94).
- (31) Porta M, Kogevinas M, Zumeta E, Sunyer J, Ribas-Fitó N. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población española: el rompecabezas sin piezas y la protección de la salud pública. *Gac Sanit* 2002;16:257-266.
- (32) Dewailly E, Mulvad G, Pedersen HS, Ayotte P, Demers A, Weber JP et al. Concentration of organochlorines in human brain, liver, and adipose tissue autopsy samples from Greenland. *Environ Health Perspect* 1999;107:823-828.
- (33) Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Laliberte C, Muir DC, Nordstrom RJ. Inuit exposure to organochlorines through the aquatic food chain in Arctic Québec. *Environ Health Perspect* 1993;101:618-620.

- (34) Kidd KA, Bootsma HA, Hesslein RH, Muir DC, Hecky RE. Biomagnification of DDT through the benthic and pelagic food webs of Lake Malawi, East Africa: Importance of trophic level and carbon source. *Environ Sci Technol* 2001;35:14-20.
- (35) Asplund L, Svenson BG, Nilsson A, Eriksson U, Jansson B, Jensen S et al. Polychlorinated biphenyls, 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethane (p,p'-DDT) and 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethylene (p,p'-DDE) in human plasma related to fish consumption. *Arch Environ Health* 1994;49:477-486.
- (36) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). ToxFAQs para DDT, DDE y DDD. Atlanta: ATSDR, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services; 2002. [fecha de acceso 11 de abril de 2003]. URL disponible en: [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts35.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts35.html)
- (37) World Health Organization (WHO). DDT and its derivatives - environmental aspects. Geneva: WHO; 1989. Environmental Health Criteria: 83
- (38) Blanco C, Garrastazu C, Frutos J. Residuos de plaguicidas organoclorados en alimentos de origen animal consumidos en la Comunidad de Madrid. Madrid: Consejería de Salud, Comunidad de Madrid; 1994. Documento Técnico de Salud Pública: 13

- (39) Lázaro R, Herrera A, Ariño A, Conchello P, Bayarri S. Organochlorine pesticide residues in total diet samples from Aragón (Northeastern Spain). *J Agric Food Chem* 1996;44:2742-2747.
- (40) Vicente A, Arqués JF, Villalbí JR, Centrich F, Serrahima E, Llebaria X et al. Plaguicidas en la dieta: aportando piezas al rompecabezas. *Gac Sanit* 2004;18:425-430.
- (41) Siddiqui MK, Saxena MC. Placenta and milk as excretory routes of lipophilic pesticides in women. *Human Toxicol* 1985;4:249-254.
- (42) Sala M, Ribas-Fitó N, Cardo E, De Muga ME, Marco E, Mazón C et al. Levels of hexachlorobenzene and other organochlorine compounds in cord blood: exposure across placenta. *Chemosphere* 2001;43:895-901.
- (43) Ferrer A, Bona MA, Castellano M, To-Figueras J, Brunet M. Organochlorine residues in human adipose tissue of the population of Zaragoza (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol* 1992;48:561-566.
- (44) Frank R, Braun HE, Thorpe B. Comparison of DDE and PCB residues in the general diet and in human blood-Ontario 1986-87. *Bull Environ Contam Toxicol* 1993;51:146-152.
- (45) Gómez-Catalán J, Planas J, To-Figueras J, Camps M, Corbella J. Organochlorine pesticide residues in the population of Catalonia (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol* 1993;51:160-164.

- (46) Greve PA, van Zoonen P. Organochlorine pesticides and PCBs in tissues from Dutch citizens (1968-1986). *Int J Environ Anal Chem* 1990;38:265-277.
- (47) Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F, Colditz GA, Manson JE, Willett WC et al. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 1997;337:1253-1258.
- (48) Tordoir W, Van Sittert NJ. Organochlorines. *Toxicology* 1994;91:51-57.
- (49) U.S. Department of Health and Human Services National Toxicology Program. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT). *Rep Carcinog* 2002 [fecha de acceso 19 de mayo de 2004]; 10:87-88. URL disponible en: <http://www.ehp.niehs.nih.gov/roc/tenth/profiles/s064ddt.pdf>
- (50) Integrated Risk Information System (IRIS). DDE. U.S. Environmental Protection Agency; 2001. [fecha de acceso 19 de mayo de 2004]. URL disponible en: <http://epa.gov/iris/subst/0328.html>
- (51) Integrated Risk Information System. DDT. U.S. Environmental Protection Agency; 2001. [fecha de acceso 19 de mayo de 2004]. URL disponible en: <http://epa.gov/iris/subst/0147.html>
- (52) Cooper RL, Kavlock RJ. Endocrine disruptors and reproductive development a weight-of-evidence overview. *J Endocrinol* 1997;152:159-166.

- (53) International Agency for Research on Cancer (IARC). Some organochlorine pesticides. DDT and associated substances. Lyon, IARC; 1974. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Man: 5
- (54) Stone R. Environmental estrogens stir debate. *Science* 1994;265:308-310.
- (55) Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kemppainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995;375:581-585.
- (56) Snedeker SM. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect* 2001;109 Supl 1:35-47.
- (57) Adami HO, Lipworth L, Titus-Ernstoff L, Hsieh CC, Hanberg A, Ahlborg U et al. Organochlorine compounds and estrogen-related cancers in women. *Cancer Causes Control* 1995;6:551-566.
- (58) Stellman SD, Djordjevic MV, Britton JA, Muscat JE, Citron ML, Kemeny M et al. Breast cancer risk in relation to adipose concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:1241-1249.
- (59) Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Ward B, Carter D, Owens PH et al. DDE and DDT in breast adipose tissue and risk of female breast cancer. *Am J Epidemiol* 1999;150:453-458.

- (60) Porta M, Malats N, Jarrod M, Grimalt JO, Rifa J, Carrato A et al. Serum concentrations of organochlorine compounds and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. PANKRAS II Study Group. *Lancet* 1999;354:2125-2129.
- (61) Quintana PJE, Delfino RJ, Korrick S, Ziogas A, Kutz FW, Jones EL et al. Adipose tissue levels of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Environ Health Perspect* 2004;112:854-861.
- (62) Cocco P, Kazerouni N, Zahm SH. Cancer mortality and environmental exposure to DDE in the United States. *Environ Health Perspect* 2000;108:1-4.
- (63) Longnecker MP, Klebanoff MA, Zhou H, Brock JW. Association between maternal serum concentration of the DDT metabolite DDE and preterm and small-for-gestational-age babies at birth. *Lancet* 2001;358:110-114.
- (64) Longnecker MP, Klebanoff MA, Brock JW, Zhou H, Gray KA, Needham LL et al. Maternal serum level of 1,1-dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and risk of cryptorchidism, hypospadias, and polythelia among male offspring. *Am J Epidemiol* 2002;155:313-322.

- (65) Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes. PNUMA; 2001. [fecha de acceso 12 de febrero de 2003]. URL disponible en: [http://www.pops.int/document/convtext\\_sp.pdf](http://www.pops.int/document/convtext_sp.pdf)
- (66) Stehr-Green PA. Demographic and seasonal influences on human serum pesticide residue levels. *J Toxicol Environ Health* 1989;27:405-421.
- (67) Laden F, Neas LM, Spiegelman D, Hankinson SE, Willett WC, Ireland K et al. Predictors of plasma concentrations of DDE and PCBs in a group of US women. *Environ Health Perspect* 1999;107:75-81.
- (68) Wolff MS, Deych E, Ojo F, Berkowitz GS. Predictors of organochlorines in New York City pregnant women, 1998-2001. *Environ Res* 2005;97:170-177.
- (69) Kardinaal AFM, Kok FJ, Ringstad J, Gómez-Aracena J, Mazaev VP, Kohlmeier L. Antioxidants in adipose tissue and risk of myocardial infarction: the EURAMIC study. *Lancet* 1993;342:1379-1384.
- (70) van 't Veer P, Strain JJ, Fernández-Crehuet J, Martin BC, Thamm M, Kardinaal AFM. Tissue antioxidants and postmenopausal breast cancer: the European Community multicentre study on antioxidants, myocardial infarction, and cancer of the breast (EURAMIC). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996;5:441-447.



- (71) Royo-Bordonada MA, Martín-Moreno JM, Guallar E, Gorgojo L, van 't Veer P, Méndez M et al. Alcohol intake and risk of breast cancer: The EURAMIC Study. *Neoplasma* 1997;44:150-156.
- (72) Beynen AC, Katan MB. Rapid sampling and long-term storage of subcutaneous adipose-tissue biopsies for determination of fatty acid composition. *Am J Clin Nutr* 1985;47:317-322.
- (73) Parker RS. Carotenoid and tocopherol composition of human adipose tissue. *Am J Clin Nutr* 1988;47:33-36.
- (74) Van Vliet T, Van Schaik F, Van Schoonhoven J, Schrijver J. Determination of several retinoids, carotenoids and E vitamers by high-performance liquid chromatography. Application to plasma and tissues of rats fed a diet rich in either beta-carotene or canthaxanthin. *J Chromatogr* 1991;553:179-186.
- (75) Gort SM, van der Hoff GR, Baumann RA, van Zoonen P. Determination of *p,p'*-DDE and PCBs in adipose tissue using high-performance liquid chromatography coupled on-line to capillary GC- The EURAMIC Study. *J High Resolut Chromatogr* 1997;20:138-142.
- (76) Canalejo E, Martín G, Gómez L, Ruiz J. Un catálogo de ácidos grasos. *Nutr Hosp* 1996;11:29-36.
- (77) SAS Institute. [Programa de ordenador] Versión 6, 8<sup>th</sup> edition. Cary, NC: SAS Institute; 1996.

- (78) Rosner B. Fundamentals of Biostatistics. 4<sup>th</sup> ed. Belmont: Duxbury Press; 1995.
- (79) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods. Iowa: Iowa State; 1989.
- (80) Kleinbaum DG, Kupper LL, Muller KE, Nizam A. Applied regression analysis and other multivariable methods. 3<sup>rd</sup> ed. Belmont: Duxbury Press; 1997.
- (81) Willett WC, Stampfer MJ. Total energy intake: implications for epidemiologic analyses. Am J Epidemiol 1986;124:17-27.
- (82) Willett WC. Nutritional Epidemiology. 2<sup>nd</sup> ed. New York: University Press; 1998.
- (83) Botella B, Crespo J, Rivas A, Cerrillo I, Olea-Serrano MF, Olea N. Exposure of women to organochlorine pesticides in Southern Spain. Environ Res 2004;96:34-40.
- (84) Sala M, Sunyer J, Otero R, Santiago-Silva M, Camps C, Grimalt JO. Organochlorine in the serum of inhabitants living near an electrochemical factory. Occup Environ Med 1999;56:152-158.

- (85) Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzon 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;40:432-438.
- (86) Zumbado M, Goethals M, Álvarez-León EE, Luzardo OP, Cabrera F, Serra-Majem L et al. Inadvertent exposure to organochlorine pesticides DDT and derivatives in people from the Canary Islands (Spain). *Sci Total Environ* 2005;339:49-62.
- (87) Kutz FW, Wood PH, Bottimore DP. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. *Rev Environ Contam Toxicol* 1991;120:1-82.
- (88) Herrera A, Ariño A, Conchello P, Lázaro R, Bayarri S, Pérez-Arquillué C et al. Estimates of mean daily intakes of persistent organochlorine pesticides from spanish fatty foodstuffs. *Bull Environ Contam Toxicol* 1996;56:173-177.
- (89) Wolff M. Half-life of organochlorines [carta]. *Arch Environ Contam Toxicol* 1999;36:504.
- (90) Noren K, Meironyte D. Certain organochlorine and organobromine contaminants in Swedish human milk in perspective of past 20-30 years. *Chemosphere* 2000;40:1111-1123.

- (91) Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzón RM, López-Carrillo L, Torres-Sánchez L. Comparison of organochlorine pesticide levels in adipose tissue and blood serum from mothers living in Veracruz, Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* 2000;64:8-15.
- (92) Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzón RM, Rivera J, Infanzón R. Time trend of organochlorine pesticide residues in human adipose tissue in Veracruz, Mexico: 1988-1997 survey. *Sci Total Environ* 1998;221:201-204.
- (93) Waliszewski SM, Pardo VT, Infanzón RM, Rivera J. Determination of organochlorine pesticide residues in human adipose tissue: 1992 study in Mexico. *Bull Environ Contam Toxicol* 1995;55:43-49.
- (94) Mes J, Marchand L, Davies DJ. Organochlorine residues in adipose tissue of Canadians. *Bull Environ Contam Toxicol* 1990;45:681-688.
- (95) Ribas-Fitó N, Sunyer J, Sala M, Grimalt JO. Cambios en las concentraciones de compuestos organoclorados en las mujeres de Flix, Tarragona. *Gac Sanit* 2003;17:309-311.
- (96) Jaga K, Dharmani C. Global surveillance of DDT and DDE levels in human tissues. *Int J Occup Med Environ Health* 2003;16:7-20.
- (97) Ludwicki JK, Góralczyk K. Organochlorine pesticides and PCBs in human adipose tissues in Poland. *Bull Environ Contam Toxicol* 1994;52:400-403.

- (98) Aronson KJ, Miller AB, Woolcott CG, Sterns EE, McCready DR, Lickley LA et al. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000;9:55-63.
- (99) Bagga D, Anders KH, Wang HJ, Roberts E, Glaspy JA. Organochlorine pesticide content of breast adipose tissue from women with breast cancer and control subjects. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:750-753.
- (100) Woolcott CG, Aronson KJ, Hanna WM, SenGupta SK, McCready DR, Sterns EE et al. Organochlorines and breast cancer risk by receptor status, tumor size, and grade (Canada). *Cancer Causes Control* 2001;12:395-404.
- (101) Smeds A, Saukko P. Identification and quantification of polychlorinated biphenyls and some endocrine disrupting pesticides in human adipose tissue from Finland. *Chemosphere* 2001;44:1463-1471.
- (102) Covaci A, de Boer J, Ryan JJ, Voorspoels S, Schepens P. Distribution of organobrominated and organochlorinated contaminants in Belgian human adipose tissue. *Environ Res* 2002;88:210-218.
- (103) Hardell L, van Bavel B, Lindstrom G, Bjornfoth H, Orgum P, Carlberg M et al. Adipose tissue concentrations of p,p'-DDE and the risk for endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 2004;95:706-711.

- (104) Camps M, Planas J, Gómez-Catalán J, Sabroso M, To-Figueras J, Corbella J. Organochlorine residues in human adipose tissue in Spain: study of an agrarian area. *Bull Environ Contam Toxicol* 1989;42:195-201.
- (105) Gómez-Catalán J, Lezaun M, To-Figueras J, Corbella J. Organochlorines residues in the adipose tissue of the population of Navarra (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol* 1995;54:534-540.
- (106) Barrotx C. Análisis de la acumulación de residuos organoclorados en tejido adiposo humano en muestras procedentes del partido judicial de Lleida. [Tesis doctoral] Barcelona: Departamento de Salud Pública, Universidad de Barcelona; 1995
- (107) Ibarluzea JM, Fernández MF, Santa-Marina L, Olea-Serrano MF, Rivas AM, Aurrekoetxea J et al. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control* 2004;15:591-600.
- (108) Molina C, Falcón M, Barba A, Cámara MA, Oliva J, Luna A. HCH and DDT residues in human fat in the population of Murcia (Spain). *Ann Agr Env Med* 2005;12:133-136.
- (109) Fattore E, Fanelli R, La Vecchia C. Persistent organic pollutants in food: public health implications. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:831-832.

- (110) Schafer KS, Kegley SE. Persistent toxic chemicals in the US food supply. *J Epidemiol Community Health* 2002;56:813-817.
- (111) Solecki, R. Pesticide residues in food 2000: DDT. Food and Drug Administration; 2000. [fecha de acceso 20 de mayo de 2004]. URL disponible en: [http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v00pr03.htm#\\_00032230](http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v00pr03.htm#_00032230)
- (112) Garaulet M, Pérez-Llamas F, Pérez-Ayala M, Martínez P, Sánchez F, Tebar FJ et al. Site-specific differences in the fatty acid composition of abdominal adipose tissue in an obese population from a Mediterranean area: relation with dietary fatty acids, plasma lipid profile, serum insulin, and central obesity. *Am J Clin Nutr* 2001;74:585-591.
- (113) German JB, Dillard CJ. Saturated fats: what dietary intake? *Am J Clin Nutr* 2004;80:550-559.
- (114) Garland M, Sacks FM, Colditz GA, Rimm EB, Sampson LA, Willett WC et al. The relation between dietary intake and adipose tissue composition of selected fatty acids in US women. *Am J Clin Nutr* 1998;67:25-30.
- (115) Arab L. Biomarkers of fat and fatty acid intake. *J Nutr* 2003;133:925-932.
- (116) Baylin A, Kabagambe EK, Siles X, Campos H. Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake. *Am J Clin Nutr* 2002;76:750-757.

- (117) Mussalo-Rauhamaa H. Influence of diet and other factors on the levels of organochlorine compounds in human adipose tissue in Finland. *J Toxicol Environ Health* 1984;13:689-704.
- (118) Sandanger TM, Brustad M, Lund E, Burkow IC. Change in levels of persistent organic pollutants in human plasma after consumption of a traditional northern Norwegian fish dish-molje (cod, cod liver, cod liver oil and hard roe). *J Environ Monit* 2003;5:160-165.
- (119) Dewailly E, Ayotte P, Laliberte C, Weber JP, Gingras S, Nantel AJ. Polychlorinated biphenyl (PCB) and dichlorodiphenyl dichloroethylene (DDE) concentrations in the breast milk of women in Quebec. *Am J Public Health* 1996;86:1241-1246.
- (120) Hunter DJ, Rimm EB, Sacks FM, Stampfer MJ, Colditz GA, Litin LB et al. Comparison of measures of fatty acid intake by subcutaneous fat aspirate, food frequency questionnaire, and diet records in a free-living population of US men. *Am J Epidemiol* 1992;135:418-427.
- (121) Marckmann P, Lassen A, Haraldsdóttir J, Sandström B. Biomarkers of habitual fish intake in adipose tissue. *Am J Clin Nutr* 1995;62:956-959.
- (122) Moysich KB, Ambrosone CB, Vena J, Marshall JR, Graham S, Laughlin R et al. Dietary correlates of serum DDE and HCB levels in postmenopausal women. *Epidemiology* 1996;7:90.



- (123) Hulshof PJM, van de Bovenkamp P, Boogerd L, Bos J, Germing-Nouwen C, Kosmeyer-Schuil T et al. Edible fats and oils. En: Department of Human Nutrition. Food analyses. Wageningen, The Netherlands: Agricultural University; 1991. p. 1-60.
- (124) Sanz-Gallardo MI, Guallar E, Van't Veer P, Longnecker MP, Strain JJ, Martin BC et al. Determinants of *p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethane (DDE) concentration in adipose tissue in women from five European cities. Arch Environ Health 1999;54:277-283.
- (125) Martín-Moreno JM. El licopeno: ¿un carotenoide con especial potencial antioxidante? Clin Invest Arteriosclerosis 1999;11:311-313.
- (126) Chug-Ahuja JK, Holden JM, Forman MR, Mangels AR, Beecher GR, Lanza E. The development and application of a carotenoid database for fruits, vegetables, and selected multicomponent foods. J Am Diet Assoc 1993;93:318-323.
- (127) Rock CL, Jacob RA, Bowen PE. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: Vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. J Am Diet Assoc 1996;96:693-702.
- (128) Martín-Moreno JM, Gorgojo L. Licopeno y salud: A propósito del tomate y de algunas de las virtudes del gazpacho, del "pa amb tomàquet" y de otros productos de nuestra gastronomía. Alim Nutri Salud 2002;9:17-26.

- (129) Gómez-Aracena J, Bogers R, Van't Veer P, Gómez-García E, García-Rodríguez A, Wedel H et al. Vegetable consumption and carotenoids in plasma and adipose tissue in Malaga, Spain. *Int J Vitam Nutr Res* 2003;73:24-31.
- (130) Arbonés G, Carbajal A, Gonzalvo B, González-Gross M, Joyanes M, Marques-Lopes I et al. Nutrición y recomendaciones dietéticas para personas mayores. Grupo de trabajo "Salud Pública" de la Sociedad Española de Nutrición (SEN). *Nutr Hosp* 2003;18:109-137.
- (131) Mayne ST. Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *J Nutr* 2003;133:933-940.
- (132) Jiang Q, Christen S, Shigenaga MK, Ames BN.  $\gamma$ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention. *Am J Clin Nutr* 2001;74:714-722.
- (133) Byers T, Marshall J, Fiedler R, Zielezny M, Graham S. Assessing nutrient intake with an abbreviated dietary interview. *Am J Epidemiol* 1985;122:41-50.
- (134) Kardinaal AFM, van 't Veer P, Brants HAM, van den Berg H, Van Schoonhoven J, Hermus RJJ. Relations between antioxidant vitamins in adipose tissue plasma and diet. *Am J Epidemiol* 1995;141:440-450.

- (135) Moysich KB, Ambrosone CB, Mendola P, Kostyniak PJ, Greizerstein HB, Vena JE et al. Exposures associated with serum organochlorine levels among postmenopausal women from western New York State. *Am J Ind Med* 2002;41:102-110.
- (136) Beynen AC, Hermus RJJ, Hautvast JGAJ. A mathematical relationship between the fatty acid composition of the diet and that of the adipose tissue in man. *Am J Clin Nutr* 1980;33:81-85.
- (137) DeVoto E, Kohlmeier L, Heeschen W. Some dietary predictors of plasma organochlorine concentrations in an elderly german population. *Arch Environ Health* 1998;53:147-155.
- (138) Sowers MR, La Pietra MT. Menopause: its epidemiology and potential association with chronic diseases. *Epidemiol Rev* 1995;17:287-302.
- (139) van der Schouw YT, van der Graaf Y, Steyerberg EW, Eijkemans MJC, Banga JD. Age at menopause as a risk factor for cardiovascular mortality. *Lancet* 1996;347:714-718.
- (140) Cooper GS, Sandler DP. Age at natural menopause and mortality. *Ann Epidemiol* 1998;8:229-235.
- (141) Gold EB, Bromberger J, Crawford S, Samuels S, Greendale GA, Harlow SD. Factors associates with age at natural menopause in a multiethnic sample of midlife women. *Am J Epidemiol* 2001;153:865-874.

- (142) Akkina JE, Reif JS, Keefe TJ, Bachand AM. Age at natural menopause and exposure to organochlorine pesticides in hispanic women. *J Toxicol Environ Health* 2004;67:1407-1422.
- (143) Cramer DW, Xu H. Predicting age at menopause. *Maturitas* 1996;23:319-326.
- (144) Cooper GS, Savitz DA, Millikan R, Chiu KT. Organochlorine exposure and age at natural menopause. *Epidemiology* 2002;13:729-733.
- (145) Morabia A, Costanza MC, and the World Health Organization Collaborative Study of Neoplasia and Steroid Contraceptives. International variability in ages at menarche, first livebirth, and menopause. *Am J Epidemiol* 1998;148:1195-1205.
- (146) Midgette AS, Baron JA. Cigarette smoking and the risk of natural menopause. *Epidemiology* 1990;1:474-480.
- (147) Bromberger JT, Matthews KA, Kuller LH, Wing RR, Meilahn EN, Plantinga P. Prospective study of the determinants of age at menopause. *Am J Epidemiol* 1997;145:124-133.
- (148) Cooper GS, Sandler DP, Bohlig M. Active and passive smoking and the occurrence of natural menopause. *Epidemiology* 1999;10:771-773.
- (149) Luoto R, Kaprio J, Uutela A. Age at natural menopause and sociodemographic status in Finland. *Ann Epidemiol* 1994;8:229-235.

- (150) Mattison DR, Thorgeirsson SS. Smoking and industrial pollution, and their effects on menopause and ovarian cancer. *Lancet* 1978;1:187-188.
- (151) Michnovicz JJ, Hershcopf RJ, Naganuma H, Bradlow L, Fishman J. Increased 2-hydroxylation of estradiol as a possible mechanism for the anti-estrogenic effect of cigarette smoking. *N Engl J Med* 1986;315:1305-1309.
- (152) Whelan EA, Sandler DP, McConnaughey R, Weinberg CR. Menstrual and reproductive characteristics and age at natural menopause. *Am J Epidemiol* 1990;131:625-632.
- (153) Hardy R, Kuh D. Reproductive characteristics and the age at inception of the perimenopause in a British National Cohort. *Am J Epidemiol* 1999;149:612-620.
- (154) Cooper GS, Baird DD, Darden FR. Measures of menopausal status in relation to demographic, reproductive, and behavioral characteristics in a population-based study of women aged 35-49 years. *Am J Epidemiol* 2001;153:1159-1165.
- (155) Brambilla DJ, Mckinlay SM. A prospective study of factors affecting age at menopause. *J Clin Epidemiol* 1989;42:1031-1039.
- (156) Willett WC, Stampfer MJ, Bain C. Cigarette smoking, relative weight, and menopause. *Am J Epidemiol* 1983;117:651-658.

- (157) Hahn RA, Eaker E, Rolka H. Reliability of reported age at menopause. *Am J Epidemiol* 1997;146:771-775.
- (158) Harlow SD, Linet MS. Agreement between questionnaire data and medical records. *Am J Epidemiol* 1989;129:233-248.
- (159) Hernández LM, Fernández MA, Hoyas E, González MJ, García JF. Organochlorine insecticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast milk in Madrid (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol* 1993;50:308-315.
- (160) Harris CA, Woolridge MW, Hay AW. Factors affecting the transfer of organochlorine pesticide residues to breastmilk. *Chemosphere* 2001;43:243-256.
- (161) Rogan WJ, Gladen BC, Mckinney JD, Carreras N, Hardy P, Thullen J et al. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Am J Public Health* 1986;76:172-177.
- (162) Skaare JU, Polder A. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in milk of Norwegian women during lactation. *Arch Environ Contam Toxicol* 1990;19:640-645.

- (163) Mes J, Davies DJ, Doucet J, Weber D, McMullen E. Levels of chlorinated hydrocarbon residues in Canadian human breast milk and their relationship to some characteristics of the donors. *Food Addit Contam* 1993;10:429-441.
- (164) Vaz R, Slorach SA, Hofvander Y. Organochlorine contaminants in Swedish human milk: studies conducted at the National Food Administration 1981-1990. *Food Addit Contam* 1993;10:407-418.
- (165) Ribas-Fitó N, Grimalt JO, Marco E, Sala M, Mazón C, Sunyer J. Breastfeeding and concentrations of HCB and *p,p'*-DDE at the age of 1 year. *Environ Res* 2004;98:8-13.

## 8. ANEXOS



---

## ANEXO I

### CUESTIONARIO SOBRE EL HÁBITO TABÁQUICO

1. ¿Fuma cigarrillos ahora?

- Sí, regularmente.....

- No.....

Si "No", ir a pregunta 5.

- Ocasionalmente (menos de un cigarrillo al día).....

2. ¿Cuántos cigarrillos fuma al día por término medio? (¿Fumó un día antes de su ingreso en el hospital?).....

3. ¿Cuántos cigarrillos fumaba al día hace un año?

Número.....

4. ¿Qué edad tenía cuando empezó a fumar cigarrillos?

Edad.....

Después de responder a esta pregunta ir a pregunta 10.

5. ¿Ha fumado cigarrillos alguna vez?

- Sí, regularmente.....

- No.....

Si "No", ir a pregunta 10.

6. ¿Cuál es el máximo número de cigarrillos que ha fumado alguna vez al día durante un año?.....

7. ¿Qué edad tenía cuando empezó a fumar cigarrillos?

Edad.....

8. ¿Cuándo dejó de fumar cigarrillos?

Año.....

9. ¿Por qué lo dejó?

.....

.....

10. ¿Ha fumado alguna vez puros?

- No.....

Si “No”, ir a pregunta 11.

- Solía, pero ahora no.....

Si “ahora no”, ir a pregunta 11.

- Ahora fumo ocasionalmente (menos de uno al día).....

- Ahora fumo regularmente.....

11. ¿Ha fumado alguna vez en pipa?

- No.....

- Solía, pero ahora no.....

- Ahora fumo ocasionalmente (menos de una vez al día).....

- Ahora fumo una regularmente.....

## ANEXO II

## CUESTIONARIO SOBRE HISTORIA REPRODUCTIVA

## A. FACTORES REPRODUCTIVOS

1. ¿Ha dado a luz a algún niño/a?

- No.....

- Sí.....

2. Si "Sí", ¿A qué edad fue el primer parto? Edad.....(años)

¿Tuvo algún otro niño? Si es así, ¿Cuántos en total (incluyendo el primero)? Número.....

¿A qué edad tuvo el último embarazo a término? Edad.....(años)

## B. FACTORES HORMONALES

1. ¿A qué edad tuvo la primera menstruación? Edad.....(años)

2. ¿Utilizó alguna vez anticonceptivos orales (ACOs)?

- Sí (no incluye terapia de reemplazamiento con estrógenos).....

- No.....

3. ¿A qué edad comenzó a usar ACOs? Edad.....(años)

¿A qué edad usó por última vez ACOs? Edad.....(años)

¿Dejó de usarlos en algún momento?

Si es así, ¿cuántos años usó ACOs en total? .....(años)

4. ¿Tuvo la menstruación durante los últimos 24 meses?

- Sí (No incluir en el estudio).....

- No.....

5. ¿A qué edad tuvo la última menstruación?

(Si menos de 24 meses antes, no incluir en el estudio) Edad.....(años)

6. ¿Los períodos terminaron espontáneamente o a causa de una cirugía ginecológica?

- Espontáneamente.....

- Cirugía.....

- Extracción de ovarios.....

- Extracción de útero.....

- Extracción de ovarios y útero.....

- Otros (especificar).....

7. ¿Recibió alguna medicación durante los años de la menopausia a causa de síntomas hormonales (terapia de reemplazamiento con estrógenos)?

- No.....

- Sí.....

Duración:

Meses....., de edad .....a edad.....

Nombre comercial y tipo.....

- No sabe porque.....

## ANEXO III

### MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS

#### **Altura**

Medir al sujeto descalzo, con los talones juntos y con la cabeza en posición horizontal. Deberá respirar profundamente y alcanzar la máxima altura con las piernas extendidas pero los pies completamente apoyados en el suelo.

#### **Peso**

Se deberá registrar el peso al kilogramo más cercano, el sujeto deberá llevar sólo ropa ligera.

#### **Circunferencia de la cintura**

Medir en la distancia media entre el margen de la última costilla y la cresta ilíaca. Es recomendable que el que efectúe la medición se sitúe enfrente del sujeto.

#### **Circunferencia de la cadera**

La medición deberá realizarse en el punto que constituye la circunferencia máxima sobre los glúteos.