



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES

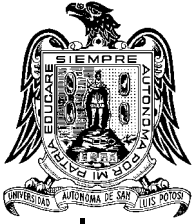
“DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPOSICIÓN PERINATAL
AL DDT Y SUS METABOLITOS A TRAVÉS DE SANGRE Y LECHE
MATERNA EN COMUNIDADES ENDÉMICAS DE PALUDISMO”

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:
Q.F.B. OLGA DANIA LÓPEZ GUZMÁN

DIRECTORA DE TESIS:
DRA. LETICIA YÁÑEZ ESTRADA

COMITÉ TUTELAR:
DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ
DRA. JAQUELINE CALDERÓN HERNÁNDEZ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN
CIENCIAS AMBIENTALES

“DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPOSICIÓN PERINATAL
AL DDT Y SUS METABOLITOS A TRAVÉS DE SANGRE Y LECHE
MATERNA EN COMUNIDADES ENDÉMICAS DE PALUDISMO”

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS AMBIENTALES

PRESENTA:

Q.F.B. OLGA DANIA LÓPEZ GUZMÁN

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. LETICIA YÁÑEZ ESTRADA

PRESIDENTE:

DRA. LETICIA YÁÑEZ ESTRADA _____

SINODALES:

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ _____

DRA. JAQUELINE CALDERÓN HERNÁNDEZ _____

DR. FLAVIO MARTÍNEZ MORALES _____

DR. ARNULFO ALBORES MEDINA _____

**PROYECTO REALIZADO EN:
LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL
DE LA FACULTAD DE MEDICINA
DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUÍS POTOSÍ**

**CON FINANCIAMIENTO DEL:
CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)
A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:
“APOPTOSIS EN NIÑOS EXPUESTOS AL DDT”
C03-FCR-06-10.11**

**CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)
BECA-TESIS (CONVENIO No. 172444)**

**EL DOCTORADO DIRECTO EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE
APOYO A TRAVÉS DEL PROGRAMA NACIONAL DE
POSGRADOS (PNP-CONACYT)**

A Raúl, Saúl y Omar

“Mis tres grandes amores”

Doy gracias a Dios por haberme permitido vivir esta maravillosa experiencia, por darme la fuerza necesaria para superar todos los momentos difíciles, pero sobre todo por haber disfrutado muchos momentos hermosos a lo largo de estos cuatro años.

Raúl, gracias por permitirme la satisfacción de adquirir lo que me gusta con el producto del esfuerzo de mi trabajo, tu apoyo y paciencia fueron fundamentales para lograrlo. Gracias por ser mi amigo y compañero. Sabes que todo esto lo logramos juntos, ¡Te amo!

Saúl y Omar, son el regalo más grande que me ha dado Dios, fueron mi mayor motivación para poder terminar. Gracias por todos aquellos días de espera.

Papá y Mamá, con la mayor gratitud y los esfuerzos realizados para que yo lograra cumplir todas mis metas en esta etapa de mi vida, sin su apoyo incondicional no lo hubiera logrado, ¡los amo, respeto y admiro profundamente!

A mis hermanos Carolina e Iván, por su apoyo y comprensión en cada uno de los momentos difíciles y por haber estado siempre ahí cuando los necesité sin pedir nada a cambio y sin hacer preguntas, ¡gracias!

Gracias

A mi directora de tesis y comité tutelar, Dra. Leticia Yáñez, Dr. Fernando Díaz-Barriga y Dra. Jaqueline Calderón.

A cada uno de mis compañeros del Laboratorio de Toxicología Ambiental, Chio, Blenda, Donají, Diana, Norma, Antonio, Rogelio, Rebeca I., Ma. Elena, César, Guillermo, Edna, Nadia, Giorgio, Tere, Iván, Jesús, Arturo, Gaby, Paty, Lili y Lety C.

A mis compañeras que en el trayecto se convirtieron en mis amigas, Norma N., Yolanda, Izanami, Rebeca L., Laura y Rocío.

A Don Ángel, Claudia y Tere Robledo.

A las mujeres que participaron en éste estudio, al personal de las clínicas rurales de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas, en especial a la Lic. Enf. Astrid López y a la Sra. Hilda Romero.

A la familia Pérez Acosta (Sra. Isabel, Sr. Raúl, Tere y Oli), por todo el tiempo y cariño que le dedicaron a mis hijos, gracias.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
Antecedentes	5
Metodología	11
Resultados	16
Discusión	22
Conclusiones	32
Bibliografía	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Características de edad y número de partos de la población participante con muestras de sangre venosa en el Estudio I.	43
Tabla 2.	Características de edad y número de partos de la población participante con muestras de leche materna en el Estudio I.	44
Tabla 3.	Concentraciones de DDT, DDE, DDD Y DDE-MeSO ₂ en plasma de mujeres del Sureste Mexicano.	45
Tabla 4.	Concentraciones de DDT, DDE, DDD Y DDE-MeSO ₂ en leche materna de mujeres del Sureste Mexicano y en la Huasteca Potosina.	46
Tabla 5.	Características de las mujeres participantes en el Estudio II.	47
Tabla 6.	Comparación de los niveles de DDT y sus metabolitos en plasma de mujeres de la Huasteca Potosina y de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí.	48
Tabla 7.	Comparación de los niveles de DDT y sus metabolitos en plasma de cordón umbilical de la Zona Huasteca y de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí.	49
Tabla 8.	Coefficientes de correlación entre las concentraciones de los DDTs en las diferentes matrices biológicas.	50
Tabla 9.	Comparación de los niveles de DDT y sus metabolitos en leche materna entre las mujeres de la Huasteca Potosina y las mujeres de la ciudad de San Luís Potosí.	51
Tabla 10.	Ingesta Diaria Aceptable (ADI) µg/kg/día de DDT más DDE en leche materna.	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Zonas de estudio de la Primera Etapa (Estudio I).	53
Figura 2.	Zonas de estudio de la Segunda Etapa (Estudio II).	54
Figura 3.	Esquema de la metodología de extracción del DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO ₂ .	55
Figura 4.	Cromatograma de una mezcla de DDT, DDE, DDD Y CB-189.	56
Figura 5.	Cromatograma de una mezcla de DDE-MeSO ₂ y MeSO ₂ -IS.	56
Figura 6.	Curvas de Calibración para el DDT, DDE, DDD Y DDE-MeSO ₂ .	57
Figura 7.	Correlaciones entre el logaritmo de la concentración de los DDTs en plasma materno y el número de partos en la población Huasteca.	58
Figura 8.	Correlaciones entre el logaritmo de la concentración de los DDTs en plasma de cordón umbilical y el número de partos en la población Huasteca.	59
Figura 9.	Correlación en leche materna entre la concentración del DDT, DDE, DDD Y DDT total y la concentración del DDE-MeSO ₂ .	60

ANEXOS

Anexo I.	Reactivos. Colecta de las muestras biológicas.	61
	Método analítico para cuantificar al DDT y sus metabolitos a partir de muestras de plasma.	
	Método analítico para cuantificar al DDT y sus metabolitos a partir de muestras de leche materna.	
Anexo II.	Validación del método instrumental.	69
	Validación del método analítico.	
Anexo III.	Cuestionario aplicado a las mujeres participantes en el estudio.	98
Anexo IV.	Artículo Publicado en Acta Toxicológica Argentina “Determinación de los niveles de DDT, DDE y DDE-MeSO ₂ en leche materna y sangre de poblaciones contaminadas por DDT en México”.	106

RESUMEN

En México, el DDT fue ampliamente utilizado en la campaña contra el paludismo, sin embargo su uso ha sido restringido en los últimos años (Castro, 1998). Debido a sus características de alta persistencia en el ambiente y a su capacidad de incorporarse a la cadena alimenticia, en comunidades endémicas de paludismo aún existen residuos del mismo (Albert, 1996). El DDE, DDD y el DDE metil sulfonado (DDE-MeSO₂) son metabolitos estables y persistentes del DDT (ATSDR, 2001). Existen reportes en la literatura donde se ha demostrado su capacidad de atravesar la barrera placentaria (Hevndricky y col. 1969). Debido a sus propiedades lipofílicas de éstos compuestos, se depositan en tejido adiposo y durante el periodo de lactancia son excretados por leche materna (Rogan y col., 1986) (Kanja y col., 1992), por consecuencia los niños lactantes representan la población más expuesta y por ende la de mayor riesgo de sufrir alguna alteración biológica.

Se validó y estandarizó el método analítico para determinar y cuantificar las concentraciones de estos metabolitos en diferentes matrices biológicas (plasma materno, plasma de cordón umbilical y leche materna). Los resultados obtenidos reflejan que éste fue preciso (el porcentaje de recobro para muestras fortificadas fue de: DDT 101±11%, DDE 114±8%, y para el DDE-MeSO₂ del 98±20%), reproducible (se obtuvo un porcentaje de coeficiente de variación de: DDT 10%, DDE 5%, DDD 10% y DDE-MeSO₂ 16%) y sensible (los límites de detección: DDT de 0.019 µg/L, DDE de 0.028 µg/L, y del DDE-MeSO₂ de 0.042 µg/L).

Una vez validado el método analítico se obtuvieron muestras por conveniencia de leche materna (n=51) y de sangre venosa (n=40), y se determinaron los niveles del DDT y sus metabolitos de mujeres que viven en zonas endémicas de paludismo (Sureste Mexicano y Huasteca Potosina) (Estudio I). Los niveles de exposición promedio de DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD en plasma de las mujeres en las diferentes comunidades fueron: Lacanjá, Chis., 64 ng/g lípido, 1323 ng/g lípido, 3738 ng/g lípido, y 236 ng/g lípido; El Ramonal, Q. Roo, 20 ng/g lípido, 748 ng/g lípido, 1271 ng/g lípido, y 162 ng/g lípido; La Cigüeña, Chis., 66 ng/g lípido, 424 ng/g lípido, y 1059 ng/g lípido, 144 ng/g lípido; y Ventanilla, Oax., 43 ng/g lípido, 335 ng/g lípido, 1362 ng/g lípido, y 145ng/g lípido; respectivamente. Las comunidades de Lacanjá y La Cigüeña presentaron los niveles mas altos de exposición al DDE-MeSO₂, que comparados con los reportes de Eslovaquia fueron 9 veces mayores (7.3 ng/g lípido) (Hovander y col., 2004). Las concentraciones promedio de DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD en leche materna fueron: El Ramonal, Q. Roo, 2.8 ng/g lípido, 911 ng/g lípido, 3100 ng/g lípido, y 1.2 ng/g lípido; La Cigüeña, Chis., 1.2 ng/g lípido, 134 ng/g lípido, 764 ng/g lípido, y 0.2 ng/g lípido; Tapachula, Chis., 0.5 ng/g lípido, 17 ng/g lípido, 683 ng/g lípido, y 0.3 ng/g lípido; la Huasteca, SLP, 1.4 ng/g lípido, 46 ng/g lípido, 490 ng/g lípido, y 0.1 ng/g lípido; y Faja de Oro, Chis., 0.4 ng/g lípido, 18 ng/g lípido, 268 ng/g lípido, y 0.1 ng/g lípido; respectivamente. Las concentraciones de DDE-MeSO₂ en El Ramonal fueron 7 veces mayores a las reportadas en Suecia en 1992 (0.4 ng/g lípido) (Noren y col., 1996).

En la segunda parte del estudio (Estudio II) se determinación de los niveles de exposición perinatal al DDT y sus metabolitos en muestras de sangre venosa, sangre

de cordón umbilical y leche materna, en 32 mujeres residentes en la Huasteca Potosina (Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas). Las muestras fueron colectadas en diferentes dos clínicas rurales de la Zona Sur de la Huasteca Potosina cuando estas mujeres asistieron para ser atendidas de parto (población de alta exposición). También se colectaron muestras de sangre venosa, sangre de cordón umbilical y leche materna de 20 mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí (población de baja exposición) que fueron atendidas de parto en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto". Las concentraciones de DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD en plasma materno de las dos zonas de exposición fueron: en la Huasteca Potosina de 101 ng/g lípido, 319 ng/g lípido, 844 ng/g lípido y 3.8 ng/g lípido, respectivamente y en la población de baja exposición de 1.7 ng/g lípido, 130 ng/g lípido, 287 ng/g lípido y 10 ng/g lípido, respectivamente. Las concentraciones de DDE-MeSO₂ en plasma de mujeres de la Huasteca Potosina, fueron 2 veces mayores a las reportadas en el primer estudio y 59 veces mayores a las cuantificadas en la población de baja exposición. Los niveles de exposición al DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD en plasma de cordón umbilical fueron en la Huasteca Potosina: 82 ng/g lípido, 255 ng/g lípido, 675 ng/g lípido y 3.6 ng/g lípido, respectivamente. En la población de baja exposición: 1.6 ng/g lípido, 125 ng/g lípido, 285 ng/g lípido y 10 ng/g lípido, respectivamente. Las concentraciones de DDE-MeSO₂ y DDE fueron mayores en la Huasteca Potosina que en la población de baja exposición ($p < 0.001$). Se encontró una correlación negativa entre los niveles de DDT, DDE y DDT total tanto en plasma materno como en plasma de cordón umbilical y el número de partos ($p < 0.005$). Con respecto a la leche materna los valores de DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD fueron en la población de la Huasteca de

7 ng/g lípido, 126 ng/g lípido, 503 ng/g lípido y 19 ng/g lípido, respectivamente y en la población de baja exposición de 0.1 ng/g lípido, 28 ng/g lípido, 54 ng/g lípido, 54 ng/g lípido y 6 ng/g lípido, respectivamente. Las concentraciones de los cuatro compuestos en las mujeres Huastecas fueron mayores con respecto a la población de baja exposición ($p < 0.001$). Los niveles de DDE-MeSO₂ en la Huasteca Potosina fueron 5 veces mayores a las reportadas en el Estudio I y 70 veces mayores a la población de baja exposición. Se encontró una correlación positiva entre los niveles de DDE-MeSO₂ en leche materna y los niveles de DDT ($r = 0.71$; $p < 0.001$), de DDE ($r = 0.72$; $p < 0.001$), y de DDT total ($r = 0.77$; $p < 0.001$).

En síntesis este estudio demostró que la población que vive en zonas endémicas de paludismo en nuestro país sigue expuesta al DDT residual, aún cuando dicho plaguicida se dejó de utilizar en el año 2000. Al haber encontrado al DDT y sus metabolitos en plasma de cordón umbilical y leche materna, indicó que la madre es una fuente de exposición para el neonato durante la gestación y posteriormente en la lactancia. Sin embargo se encontró una correlación inversa entre los niveles de DDT y DDE en plasma materno, plasma de cordón umbilical y el número de partos, pero no así para el DDE-MeSO₂. Las concentraciones de DDE-MeSO₂ fueron menores a las cuantificadas de DDT, DDE y DDD en leche materna, lo que indicó que probablemente el metabolito sulfonado se está almacenando en glándula adrenal. Por el daño adrenal (hiperplasia y necrosis) que causa dicho compuesto en modelos animales, es importante continuar el estudio de éste metabolito en las poblaciones más susceptibles y de mayor riesgo como lo son los niños.

ANTECEDENTES

El DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano) es un insecticida sintético, cristalino e insoluble en agua que pertenece a la familia de los compuestos orgánicos halogenados (ATSDR, 2001). Mundialmente se usó extensivamente para el control del paludismo y otras enfermedades transmitidas por vectores (Wijeyaratne, 1993). En México se utilizó ampliamente en la agricultura (Castro, 1998). Debido a la alta persistencia en el ambiente (tiempo de vida media de 30 años), a su estabilidad química, a su resistencia a la radiación UV y al oxígeno, y a los efectos en salud y en la biota, a partir del año 2000 su uso se restringió en nuestro país (ATSDR, 2001) (Aguirre y col., 2001). El DDT puede transportarse a grandes distancias por la atmósfera originándose lo que se conoce como “efecto saltamontes”, desplazándose de las zonas calientes a las frías y quedando depositado en las mismas, lo que ha provocado una importante contaminación en el ecosistema (Tiernan, 2002).

Los metabolitos de este insecticida que se han detectado en mamíferos, son el 1,1-dicloro-2,2-bis(p-diclorodifenil)etileno (DDE), el 1,1-dicloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano (DDD) y el 3-metilsulfonil-2,2-bis(4-clorofenil)-1,1-dicloroetano (DDE-MeSO₂) (ATSDR, 2001). El metabolismo de éstos compuestos se realiza en el hígado. Otro metabolito identificado es el DDA (2,2-bis(diclorodifenil)ácido acético), el cual se forma en el riñón y por tanto es excretado por la orina (ATSDR, 2001). Los derivados del DDE tienen circulación entero-hepática, es decir, se excretan en la bilis por la vía del ácido mercaptúrico, en el intestino, son modificados por la flora intestinal y esto permite que se reabsorban por lo que son tomados como sustratos para formar en el hígado el DDE-MeSO₂ (Johansson, 1998). Una vez formado este

metabolito se distribuye por todo el organismo pero se almacena en la corteza de la glándula suprarrenal (Jonsson y col., 1991) (Jonsson y col., 1994); principalmente en la zona fasciculada, probablemente por su alto contenido de vacuolas lipídicas.

El DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD tienen la capacidad de atravesar la barrera placentaria (Hevndricky y col. 1969). Debido a sus propiedades lipofílicas, tanto el DDT como sus metabolitos son almacenados principalmente en tejidos ricos en grasa y subsecuentemente son transportados y excretados a través de la grasa de la leche materna durante los periodos de lactancia (Rogan y col. 1986) (Kanja y col., 1992). Por lo tanto, la leche materna es una vía de eliminación para la madre pero una fuente importante de exposición para el infante. Esto en las zonas rurales de México cobra vital importancia en aquellas zonas en las cuales el periodo de lactancia puede ser mayor a dos años (Rogan y col., 1986), por lo que la cuantificación de los niveles de DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂, en leche materna, permitiría evaluar los niveles de exposición en neonatos a dichos compuestos. A pesar de esta problemática no es recomendable suspender la lactancia ya que la leche materna es el principal, y en algunas áreas, el único alimento para los neonatos.

El DDE-MeSO₂, fue cuantificado por primera vez en grasa de focas del mar Báltico, en un rango de 0.1 a 6 µg/g (Jensen y col., 1976). Posteriormente se encontró en aves, ratones y osos polares (Jonsson y col. 1991). En muestras humanas, el DDE-MeSO₂ se ha encontrado en leche materna de mujeres suecas en

concentraciones de hasta 5 ng/g lípido (Norén y col., 1996). También se ha encontrado en otros tejidos como el adiposo (de 0.12 a 8.88 ng/g lípido) y el hígado (de 0.41 a 31.10 ng/g lípido) de biopsias humanas (Weistrand y col., 1997).

Los efectos tóxicos reportados en humanos asociados con la exposición al DDT y sus metabolitos son daños neurológicos, genéticos, hepáticos y efectos reproductivos (ATSDR, 2001). La exposición aguda a este insecticida, se ha asociado con síntomas neurológicos como parestesias, convulsiones, temblores e hiperexcitabilidad (ATSDR, 2001) (OMS, 1982). La probabilidad de que este insecticida produzca cáncer en humanos sigue en controversia por lo que aún se sigue estudiando (ATSDR, 2001). Estudios recientes han demostrado que el p'p-DDT, p'p-DDE y p'p-DDD inducen muerte celular programada (apoptosis) en células mononucleares sanguíneas periféricas de niños expuestos a este insecticida residentes del Sureste Mexicano (Pérez y col., 2003). Existen evidencias de que la glándula adrenal es el órgano blanco del o,p'-DDD en humanos y del DDE-MeSO₂ en modelos animales (ATSDR, 2001). Se ha reportado que en la mitocondria de ésta glándula, y principalmente, en el citocromo p-45011β1, el DDE-MeSO₂ presenta una inhibición competitiva con la 11-deoxycorticosterona, que es la responsable de la síntesis del cortisol (Jonsson y col., 1991). Al inhibirse la síntesis de éste, lo que tiene como consecuencia es una capacidad limitada para acumular y movilizar carbohidratos, proteínas, grasas y agua; ocasiona una debilidad extrema, la respuesta inmune y al estrés están alteradas y puede llegar a ocasionar una hiperplasia de la corteza adrenal (Smith, 1993).

En ratas, dependiendo de la dosis, el DDT en el hígado puede ocasionar hipertrofia, necrosis o hiperplasia del hepatocito (ATSDR, 2001) (Jonson y col., 1981); en relación a la exposición crónica se ha reportado disminución de la fertilidad y un incremento en la mortalidad fetal en roedores (Deichmann y col. 1996) (ATSDR, 2001). El o,p'-DDT tiene un efecto estrogénico y el p,p'-DDE un efecto antiandrogénico y antiestrogénico en roedores (Welch y col. 1969). Otros estudios han mostrado que el DDT, DDE y el DDD inducen cáncer de hígado en animales (ATSDR, 2001).

En nuestro país se han detectado concentraciones importantes de DDT y sus metabolitos en muestras ambientales (suelo y sedimento) debido a que durante la campaña de paludismo se rociaba el insecticida sobre las paredes del interior y exterior de las viviendas, esto trajo como consecuencia que el suelo se contaminara, convirtiéndose éste en una importante fuente de exposición para los habitantes de las viviendas (Yáñez y col., 2002). Por el efecto de la lluvia y los huracanes el insecticida ha sido "arrastrado" a cuerpos de agua, precipitándose en los sedimentos marinos, de ríos y de manglares, por la gran cantidad de materia orgánica presente en éstos. Los organismos que viven en estos hábitats se alimentan del mismo y a su vez éstos son ingeridos por peces más grandes. De esta manera, el insecticida se ha incorporado a la cadena alimenticia, presentando un efecto de bioacumulación (absorción y retención de un contaminante por un organismo respecto al medio en el que vive) y biomagnificación (incremento de la concentración de un contaminante en los tejidos de los organismos en sucesivos niveles tróficos superiores) (Calow, 1993). Estos fenómenos explican la presencia del DDT y sus metabolitos en invertebrados,

peces, aves y humanos (Albert, 1996). Tomando en cuenta estas propiedades, la ingesta de alimentos puede ser considerada una fuente de exposición no solo para las comunidades endémicas de paludismo sino para la población en general.

Estudios realizados por el Departamento de Toxicología Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, han demostrado la presencia de concentraciones de DDT total en peces (de 49 a 2237 ng/g lípido), invertebrados (de 442 a 2336 ng/g lípido) y músculo de aves (de 1371 a 6064 ng/g lípido) del Sureste de México. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que el alimento (el pescado y otros animales acuáticos alimenticios principalmente) sean una fuente importante de exposición a este insecticida y sus metabolitos. Si éste está biodisponible y se absorbe por vía oral, es muy probable que se detecte al DDT y sus metabolitos en circulación general. En muestras sanguíneas de niños y de mujeres de la misma zona en que se cuantificaron los peces, se detectaron concentraciones en plasma de DDT superiores en niños que en mujeres de 13.45 a 141.80 µg/L y de 2.15 a 54.8 µg/L, respectivamente (Payne y col., 2001) (Pérez y col., 2003).

En nuestro país el único antecedente que se tiene del metabolito del DDT, el DDE-MeSO₂, es un estudio realizado en 1998 en colaboración con la Universidad de Estocolmo y el Departamento de Toxicología Ambiental de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí se cuantificaron 5 muestras de sangre de mujeres indígenas que estaban expuestas al DDT, encontrándose un promedio de 140 ng/g lípido de DDE-MeSO₂ (Bergman A., comunicación personal) este resultado es de gran

relevancia pues al compararlo con los datos de la literatura es 20 veces mayor (Noren y col., 1996).

Debido a que en México el DDT fue utilizado hasta el año 2000, el objetivo general del presente trabajo fue cuantificar los niveles de exposición perinatal en comunidades endémicas contaminadas con DDT y sus metabolitos a través de sangre de cordón umbilical, sangre periférica de la madre y leche materna; así como también demostrar la presencia del DDE-MeSO₂ en dichos fluidos biológicos. Para lograr dicho objetivo se validó un método instrumental y analítico para cuantificar al DDT y sus metabolitos en las diferentes matrices biológicas y así calcular la magnitud del riesgo en la población expuestas a dicho plaguicida.

Es importante mencionar que el DDE-MeSO₂ es el metabolito menos estudiado y por los reportes en la literatura de su capacidad adrenotóxica (hiperplasia y necrosis) en modelos animales, es de gran relevancia incluirlo en este estudio. Además de demostrar que aún persiste un riesgo por la exposición al DDT residual.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en dos etapas. En la primera etapa (Estudio I) el objetivo fue validar el método analítico e identificar la presencia del DDE-MeSO₂. Para ello durante el año del 2004 se obtuvieron muestras por conveniencia de sangre venosa y leche materna de mujeres del Sureste Mexicano residentes en comunidades endémicas de paludismo (figura 1). En la segunda etapa (Estudio II) se realizó un estudio piloto durante el año del 2006, cuyo objetivo fue evaluar la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos a través de muestras de sangre venosa, sangre de cordón umbilical y leche materna y así establecer la relación madre/hijo.

Selección de la población.

Primera Etapa (Estudio I): Se colectaron 40 muestras de sangre venosa de mujeres que viven en las comunidades de El Ramonal, Quintana Roo; Ventanilla, Oaxaca; Lacanjá y La Cigüeña, Chiapas. Además se colectaron 51 muestras de leche, independientes de las muestras de sangre venosa, de madres residentes de las comunidades de El Ramonal, Quintana Roo; La Cigüeña, Faja de Oro y Tapachula, Chiapas; y de la Huasteca Potosina. El nivel socioeconómico de las mujeres participantes era similar, el 85% eran indígenas mexicanas y el tiempo de residencia mínimo fue 5 años previos al estudio en sus respectivas comunidades.

Segunda Etapa (Estudio II): se colectaron muestras sangre venosa, sangre de cordón umbilical y leche materna de 32 mujeres que aceptaron participar en el estudio y que eran residentes de los Municipios de Tampamolón de Corona y de

Axtla de Terrazas, ambas comunidades pertenecientes a la Zona Huasteca Sur del Estado de San Luís Potosí (población de alta exposición) (figura 2). Como población de menor exposición se incluyeron 20 mujeres que aceptaron voluntariamente participar en el estudio, se obtuvieron muestras de sangre venosa, sangre de cordón umbilical y leche materna, las mujeres provenían de zonas suburbanas de alrededor de la ciudad de San Luís Potosí y que llegaban al Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” a ser atendidas de parto. Todas ellas con un nivel socioeconómico similar.

La población de baja exposición estuvo formada por mujeres que en su infancia estuvieron expuestas al DDT debido a que vivieron en zonas agrícolas donde se aplicó el insecticida o a través de sus madres que vivieron en zonas endémicas de paludismo (información adquirida a través de los cuestionarios).

La muestra de sangre venosa de la madre se tomó durante el trabajo de parto y después del nacimiento del neonato se colectó la muestra de sangre del cordón umbilical. La muestra de leche materna se obtuvo durante el primer trimestre de lactancia. Las muestras colectadas se conservaron en congelación hasta su análisis, el cual se realizó en el Departamento de Toxicología Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luís Potosí. Se aplicó un cuestionario a la madre para registrar información como: nombre y edad de la madre, domicilio, número de partos, antecedentes ginecológicos, tiempo de lactancia, hábitos alimenticios, antecedentes de exposición a plaguicidas, alcoholismo y tabaquismo entre otros (Anexo III).

Determinación Analítica.

La metodología utilizada para el análisis de los diferentes compuestos fue una modificación del método reportado por Hovander y col., 2000 (Anexo I). En la figura 3 se muestra el esquema de la metodología de extracción del DDT y sus metabolitos. Brevemente, a 5g de leche materna o plasma, se les adicionó isopropanol para desnaturalizar las proteínas. Se determinaron los lípidos totales por gravimetría. Posteriormente se realizó una extracción líquido-líquido con dietil éter:hexano (1:1) para obtener los diferentes analitos (DDE-MeSO₂, DDT, DDE y DDD). Posteriormente se limpió la muestra con una columna de SiO₂/H₂SO₄ conc. (2:1) y se eluyó con diclorometano. Se realizó cambio de solvente a hexano y se evaporó la muestra a 1ml con una corriente de N₂ a 37°C. La cuantificación de los diferentes compuestos se realizó por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG-CE) (Anexo I).

La validación del método instrumental se detalla en el Anexo II. El método analítico se llevó a cabo utilizando soluciones comerciales de DDT, DDE y DDD; el DDE- MeSO₂ fue donado por la Universidad de Estocolmo, Suecia. A partir de éstas se prepararon estándares de diferentes concentraciones de cada analito en hexano. La cuantificación de los compuestos se realizó con el método de estándar interno (CB-189 y MeSO₂-IS) y la identificación de los mismos se realizó con su tiempo de retención. La linealidad se determinó por el análisis de regresión lineal de cinco concentraciones diferentes *versus* área, a partir de las cuales se generaron las curvas de calibración de cada analito en plasma y leche. Para obtener el porcentaje de recobro de cada compuesto, se fortificaron muestras blanco de plasma y leche

(mujeres no expuestas) y se trataron de acuerdo al método descrito en el Anexo I. Bajo estas condiciones los porcentaje de recobro en plasma y leche fueron: DDT 94 \pm 8% y 101 \pm 11%; DDE 100 \pm 7% y 114 \pm 8%; DDD 103 \pm 14% y 90 \pm 8%; y DDE-MeSO₂ 100 \pm 12% y 98 \pm 20%, respectivamente. Los porcentajes de los coeficientes de variación que se obtuvieron para la precisión fueron de: DDT 17.1% y 4.0%; DDE 10.1% y 0.3%; DDD 3.1% y 17.1%; DDE-MeSO₂ 20.6% y 12.5%, para plasma y leche, respectivamente. Los límites de detección para plasma y leche fueron de: DDT 0.024 y 0.025 μ g/L; DDE 0.035 y 0.034 μ g/L; DDD 0.040 y 0.045 μ g/L; DDE-MeSO₂ de 0.051 y 0.049 μ g/L, respectivamente. El rango lineal para ambas matrices fue de 0.6 a 250 μ g/L para el DDT, DDE y DDD; y para el DDE-MeSO₂ de 0.6 a 10 μ g/L.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis exploratorio de las variables para evaluar el tipo de distribución seguido de un análisis bivariado. Aquellas variables que no se ajustaron a una distribución normal fueron transformadas a logaritmo decimal. Posteriormente se realizaron comparaciones de medias, para ello se aplicaron pruebas de t-Student. Para evaluar la asociación entre el DDT y sus metabolitos en las diferentes matrices biológicas se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson. Todo el análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico STATISTICA V6.

Finalmente, se calculó la Ingesta Diaria Aceptable (ADI por sus siglas en inglés) utilizando la fórmula reportada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (WHO/FAO, 1985).

$$\text{ADI } (\mu\text{g /kg/día}) = \frac{[\text{concentración DDT + DDE } (\mu\text{g/L})] * [\text{tasa de ingesta de leche (L/día)}] * [\text{lípidos } (\mu\text{g})]}{[\text{peso corporal (kg)}]}$$

Donde:

Tasa de ingesta de leche = 0.8 L/día

Peso corporal = 5 kg

RESULTADOS

El desarrollo y validación del método analítico e instrumental se detalla en el Anexo II. En la figura 4 se presenta el cromatograma obtenido de una mezcla de los estándares de DDT, DDE, DDD y el estándar interno CB-189. En la figura 5 se muestra el cromatograma de una mezcla de DDE-MeSO₂ y MeSO₂-IS (estándar interno); a partir de ambos se puede conocer el tiempo de retención de cada compuesto, éste se emplea como el parámetro de identificación para cada uno de los analitos. En la figura 6 se muestran las curvas de calibración promedio de tres repeticiones del DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂, en plasma y en leche materna.

Estudio I.

En relación a las muestras de sangre venosa y leche para la primera etapa fueron por conveniencia, de mujeres del Sureste Mexicano (Quintana Roo, Chiapas y Oaxaca) y de San Luís Potosí (Huasteca), de las cuales solo se tiene el registro de la edad y el número de partos. En la tabla 1 se muestran las características de la población participante con muestras de sangre venosa. La edad promedio de las mujeres fue de 26 años ± 8 y el número de partos fue de 0 a 12. Con respecto a las muestras de leche materna, las participantes tenían un promedio de edad de 25 años ± 7 y el número de partos entre 1 y 6 (tabla 2).

En la tabla 3 se muestran los valores de DDT, DDE, DDD Y DDE-MeSO₂ en plasma. La comunidad de Lacanjá presentó la mayor exposición al DDT y al DDE (1323 y 3738 ng/g lípido, respectivamente), mientras que la comunidad de Ventanilla obtuvo la menor concentración de DDT (335 ng/g lípido) y La Cigüeña de DDE (1059

ng/g lípido). Los valores de DDE-MeSO₂ en plasma, en las cuatro comunidades, fueron de 11 a 191 ng/g lípido. Las comunidades de Lacanjá y la Cigüeña, fueron las de mayor exposición con una concentración promedio de 64 y 66 ng/g lípido, respectivamente.

Los resultados de las muestras de leche materna se muestran en la tabla 4. La comunidad de El Ramonal presentó los niveles de mayor exposición al DDT y al DDE (911 y 3100 ng/g lípido, respectivamente) y la comunidad de menor exposición fue Faja de Oro (18 y 268 ng/g lípido, respectivamente). Como se esperaba, en el 100% de las muestras se identificaron las concentraciones de DDE-MeSO₂, los valores variaron de 0.02 a 38 ng/g lípido. Las concentraciones más altas de dicho metabolito se encontraron en mujeres de El Ramonal 2.8 ng/g lípido (de 0.2 a 9.3 ng/g lípido).

Se calculó la ADI promedio para cada comunidad, los resultados obtenidos fueron los siguientes: El Ramonal de 141 µg/kg/día, La Cigüeña 55 de µg/kg/día, Tapachula de 51 µg/kg/día, la Huasteca de 40 µg/kg/día y Faja de Oro de 19 µg/kg/día (tabla 10). Todas las ADIs (a excepción de Faja de Oro) estuvieron por arriba del valor de referencia establecido por la OMS de 20 µg/kg/día (WHO/FAO, 1985).

Estudio II.

En la tabla 5 se presentan las características de las mujeres participantes de la Huasteca Potosina, las cuales tenían una edad promedio de 25 años ± 5 , el número de partos fue 1 a 9 y un periodo de lactancia de 33 días ± 25 . Con respecto a la

población de baja exposición, la edad promedio fue de 24 años ± 6 , el número de partos fue de 1 a 6 y tenían un periodo de lactancia de 49 días ± 12 .

En la tabla 6 se muestran las concentraciones del DDT y sus metabolitos en plasma de las mujeres de las dos poblaciones estudiadas. En la Huasteca Potosina se detectaron concentraciones muy superiores en plasma de DDE (844 ng/g lípido), DDT total (1339 ng/g lípido) (sumatoria de las concentraciones de DDT, DDE y DDD) y DDE-MeSO₂ (101 ng/g lípido) a las obtenidas en la población de baja exposición (287, 539 y 1.7 ng/g lípido, respectivamente) ($p < 0.001$). Para el DDT no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de la Huasteca Potosina (319 ng/g lípido) y las concentraciones de la población de baja exposición (130 ng/g lípido), así como tampoco hubo diferencias entre ambas poblaciones en los niveles de DDD (3.8 ng/g lípido Huasteca Potosina contra 10 ng/g lípido población de baja exposición).

Los niveles de exposición al DDT y sus metabolitos en plasma de cordón umbilical se presentan en la tabla 7. De acuerdo con estos resultados los hijos de las mujeres Huastecas conforman la población de mayor exposición al DDE, DDT total y DDE-MeSO₂ en comparación con los hijos de las madres de la zona de baja exposición ($p < 0.001$). En relación a la concentración promedio obtenida de DDE en plasma de cordón umbilical en las mujeres Huastecas fue de 675 ng/g lípido (de 75 a 3903 ng/g lípido); de DDT total fue de 1072 ng/g lípido (de 76 a 4412 ng/g lípido); mientras que de DDE-MeSO₂ se cuantificó un nivel promedio de 82 ng/g lípido (de 1.2 a 451 ng/g lípido). Con respecto al DDT y al DDD no se observaron diferencias

estadísticas entre ambas poblaciones. Los niveles promedio de DDT para la Huasteca Potosina fueron de 255 ng/g lípido y de 125 ng/g lípido para la población de baja exposición; mientras que los niveles de DDD fueron de 3.6 ng/g lípido y de 10 ng/g lípido, respectivamente.

En la tabla 8 se presentan los coeficientes de correlación entre las concentraciones de DDT en plasma materno y plasma de cordón umbilical ($r=0.93$, $p=0.001$), para el DDE ($r=0.88$, $p=0.0005$), para el DDD ($r=0.74$, $p=0.0003$), para el DDT total ($r=0.84$, $p=0.001$) y para el DDE-MeSO₂ ($r=0.92$, $p=0.0009$) en la Huasteca Potosina. Con respecto a la zona de baja exposición los resultados fueron: DDT ($r=0.93$, $p=0.001$), DDE ($r=0.92$, $p=0.0005$), DDD ($r=0.80$, $p=0.0003$), DDT total ($r=0.84$, $p=0.001$) y DDE-MeSO₂ ($r=0.93$, $p=0.0009$).

Se analizó la relación entre las concentraciones de DDTs (DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂) en plasma materno y plasma de cordón umbilical incluyendo las variables obtenidas del cuestionario (edad de la madre, número de partos, antecedentes ginecológicos, tiempo de lactancia y hábitos alimenticios, entre otros). Los resultados obtenidos indicaron que solamente el número de partos mostró una relación inversa estadísticamente significativa en el grupo de mujeres de la Huasteca Potosina ($p<0.005$) (figura 7). Los coeficientes de correlación fueron para el DDT ($r=-0.54$, $p=0.004$), para el DDE ($r=-0.49$, $p=0.003$) y para el DDT total ($r=-0.53$, $p=0.005$). En plasma de cordón umbilical las correlaciones entre las concentraciones de los analitos en esta matriz y el número de partos fueron para el DDT ($r=-0.43$, $p=0.004$), para el DDE ($r=-0.40$, $p=0.003$) y para el DDT total ($r=-0.42$, $p=0.005$)

(figura 8). No se encontró una correlación estadística entre las concentraciones del DDD y el DDE-MeSO₂ en plasma de la madre, plasma de cordón umbilical y el número de partos. Tampoco se encontró una correlación entre los niveles de DDT, DDE, DDD y DDT total y los niveles de DDE-MeSO₂ en las mismas matrices.

En la tabla 9 se muestran los resultados de los niveles de DDT y sus metabolitos en leche materna, entre las mujeres de la Huasteca Potosina y las de la zona de baja exposición. Las concentraciones de todos los analitos fueron estadísticamente superiores en las mujeres Huastecas ($p < 0.001$). Las concentraciones en la Huasteca Potosina fueron: de DDT 126 ng/g lípido (de 19 a 5661 ng/g lípido), de DDE 503 ng/g lípido (de 37 a 4423 ng/g lípido), de DDD 19 ng/g lípido (de 0.1 a 559 ng/g lípido), de DDT total 745 ng/g lípido (de 69 a 6912 ng/g lípido) y de DDE-MeSO₂ 7 ng/g lípido (de 0.15 a 176 ng/ lípido). Con respecto a las concentraciones en leche materna de las mujeres de la zona de baja exposición, los resultados fueron: DDT 28 ng/g lípido (de 13 a 121 ng/g lípido), DDE 54 ng/g lípido (de 20 a 312 ng/g lípido), DDD 6 ng/g lípido (de 0.1 a 34 ng/g lípido), DDT total 99 ng/g lípido (de 33 a 433 ng/g lípido) y DDE-MeSO₂ 0.1 ng/g lípido (de 0.1 a 0.8 ng/g lípido).

Debido a que las concentraciones de DDTs en leche materna tuvieron un comportamiento unimodal, se realizó el análisis estadístico considerando a ambas poblaciones (Huasteca Potosina y baja exposición) como un solo grupo. No se encontró ninguna correlación estadística entre los niveles de DDTs y las variables como edad de la madre, número de partos y tiempo de lactancia, entre otras. Sin embargo se encontró una alta correlación entre las concentraciones de DDT ($r=0.71$,

$p < 0.001$), DDE ($r = 0.72$, $p < 0.001$), DDT total ($r = 0.77$, $p < 0.001$) y las concentraciones de DDE-MeSO₂ en leche materna (figura 9).

Debido a que se encontró una correlación entre los niveles de los DDTs en plasma materno y plasma de cordón umbilical (tabla 8), se exploró la posibilidad de que existiera una asociación entre las concentraciones de DDTs en estas matrices y en leche materna. Tanto para la población Huasteca como para la de baja exposición, se observó una correlación estadísticamente significativa ($p < 0.001$) en las concentraciones de DDE entre plasma de la madre y leche materna ($r = 0.50$ y 0.49 , respectivamente); entre plasma de cordón umbilical y leche materna ($r = 0.42$ y 0.39 , respectivamente). Para el caso del DDT total la correlación fue estadísticamente significativa ($p < 0.001$) entre plasma materno y leche materna ($r = 0.49$ y 0.50 , respectivamente) y entre plasma de cordón umbilical y leche materna ($r = 0.38$ y 0.39 , respectivamente).

La ADI promedio calculada para la Huasteca Potosina fue de $31 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (de 2 a $157 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) y para la zona de baja exposición de $2 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (de 1 a $5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$) (tabla 10).

DISCUSIÓN

Estudio I.

Como era de esperarse las concentraciones de DDT (de 335 a 1323 ng/g lípido) y DDE (de 1059 a 3738 ng/g lípido) en plasma cuantificadas en esta primera sección del proyecto concuerdan con los datos reportados por Yáñez y col., en el 2002 de mujeres provenientes de Chiapas y Oaxaca (1118 ng de DDT/g lípido y 2500 ng de DDE/g lípido). Y con los reportados en el 2002 por Waliszewski y col., de madres residentes de una zona palúdica de Veracruz (1200 ng de DDT/g lípido y 1050 ng de DDE/g lípido). Estos hallazgos reflejan que a pesar de que transcurrieron 4 años a partir de la última aplicación del plaguicida en dichas zonas, aún existe una exposición al DDT residual en estas comunidades, esto debido a que dicho compuesto tarda hasta 30 años en degradarse en el ambiente y 6 años en eliminarse del organismo, por lo tanto la población que vive en estas zonas, también presenta una exposición crónica al DDT y sus metabolitos. Con respecto al DDE-MeSO₂ los valores encontrados en la comunidad de Lacanjá (64 ng/g lípido) y La Cigüeña (66 ng/g lípido) son 9 veces mayores a los reportados en el 2004 por Hovander y col. (7.3 ng/g lípido), este estudio lo realizó con residentes de Eslovaquia. Otros estudios reportados, en los cuales midieron los niveles de este metabolito en muestras de biopsias humanas de hígado y de tejido adiposo (Chu y col., 2003), encontraron concentraciones de 1.15 ng/g lípido y 4.69 ng/g lípido, respectivamente, que al compararlos con los resultados obtenidos en nuestro estudio, las mujeres del Sureste Mexicano tuvieron concentraciones entre 15 y 60 veces más. Esto es de gran relevancia toxicológica si tomamos en cuenta que existen reportes en la literatura en

los cuales se han observado daños adrenales (hiperplasia y necrosis de la zona fasciculada) en focas y osos polares a concentraciones sanguíneas de 0.7 a 100 ng/g lípido (Letcher, 1996). Por lo que los valores obtenidos en plasma en nuestra población (de 11 a 158 ng/g lípido), podrían representar un riesgo de presentar un efecto en salud (hiperplasia y/o necrosis de la glándula adrenal).

Se pudo observar que en la comunidad de Lacanjá se determinaron las mayores concentraciones en plasma para los cuatro compuestos, sin embargo, para el resto de las comunidades analizadas, no presentaron la misma tendencia, es decir, que en una misma comunidad se encontraran los mayores niveles de exposición al DDT y sus metabolitos y en otra comunidad los menores. Por ejemplo, de las cuatro comunidades, en Ventanilla se determinaron los menores niveles de DDT (335 ng/g lípido), pero ocupó el segundo lugar en concentraciones de DDE (1362 ng/g lípido) y el tercer lugar en concentraciones de DDE-MeSO₂ (43 ng/g lípido). Estas discrepancias en las concentraciones de DDT y DDE se pueden explicar debido a que existe una considerable diferencia de una persona a otra en los niveles de las enzimas encargadas de la biotransformación del DDT (superfamilia de enzimas citocromo P450 participantes en la fase I del metabolismo del DDT, en la que la reacción catalizadora es la deshalogenación) (Lucas y col., 2001). La expresión y actividad de dichas enzimas son influenciadas por diversos factores como la edad, sexo, dieta, tejido y estado hormonal (Coon y col., 1992). Los diversos individuos responden en distinta forma a la exposición a contaminantes, lo que se debe a un diferente contenido de cada isoforma CYP. Una de las causas de esta variación sería la existencia de un polimorfismo genético, lo que produce variantes

genéticas que difieren en su capacidad individual para metabolizar los tóxicos (Hong y col., 1997). Con respecto a las diferencias de las concentraciones determinadas en las cuatro comunidades del DDE-MeSO₂, se pueden explicar debido a que éste compuesto se origina de las biotransformaciones de fase II que sufre el DDE y que consisten en reacciones de conjugación con el glutatión (Johansson, 1998), que son catalizadas por la glutatión-S-transferasa y la glutatión metilasa, por lo tanto la formación del metabolito conjugado está limitado a la presencia de dichas enzimas (Jonsson y col., 1991).

Con respecto al estudio realizado en leche materna, los resultados muestran que el DDT y el DDE en la comunidad de El Ramonal (911 y 3100 ng/g lípido, respectivamente) son similares a los reportados en el 2002 por Waliszewski y col., en el cual se incluyeron mujeres de diferentes regiones de México (510 ng de DDT/g lípido y 3230 ng de DDE/g lípido). Los niveles promedio de DDE-MeSO₂ cuantificados, indican que la comunidad de mayor exposición fue El Ramonal (2.8 ng/g lípido), este valor es siete veces mayor que el reportado en un estudio realizado en 1992 en leche de mujeres Suecas (0.4 ng/g lípido) (Noren y col., 1996).

Con respecto a la ADI para el DDT más el DDE, estimado a partir de las concentraciones encontradas de éstos, el valor promedio se excedió entre 1.4 a 20 veces al recomendado por la OMS (20 µg/kg/día). Particularmente en la comunidad de El Ramonal el 100% de los infantes están expuestos a dosis mayores de 20 µg/kg/día, lo que implica que para los neonatos puede ser un riesgo potencial en

salud por la exposición al DDT y sus metabolitos (aumento en la estimulación de las enzimas microsomales, daño hepático) (WHO/FAO, 1985).

Estudio II.

Las concentraciones promedio cuantificadas de DDT (319 ng/g lípido) y de DDE (844 ng/g lípido) en plasma de mujeres que viven en la Huasteca Potosina son menores a las detectadas en mujeres del Sureste Mexicano (Estudio I) (707 y 1857 ng/g lípido, respectivamente) (López y col., 2006); y a las reportadas por Waliszewski en mujeres habitantes del Sureste Mexicano (780 y 4450 ng/g lípido, respectivamente) (Waliszewski y col., 2000). Este resultado se explica debido a que probablemente las cantidades de DDT rociadas en la zona Huasteca fueron menores a las aplicadas en el Sureste Mexicano, ya que esta zona tuvo menor incidencia de paludismo (Yáñez y col., 2002). Los datos que se obtuvieron demuestran que aun persiste la exposición al DDT y a sus metabolitos a pesar de que se aplicó por última ocasión en el año 2000. Los niveles de dichos contaminantes en plasma materno de la Huasteca Potosina fueron de 2.4 a 2.9 veces mayores (319 ng de DDT/g lípido y 844 ng de DDE/g lípido) a los encontrados en la población de baja exposición (130 ng de DDT/g lípido y 287 ng de DDE/ g lípido).

Los niveles de DDT (880 ng/g lípido) y de DDE (4700 ng/g lípido) reportados en plasma de cordón umbilical del Sureste de nuestro país (Waliszewski y col., 2000) son de 2 a 8 veces mayores a los encontrados en el presente estudio (255 ng/g lípido y 675 ng/g lípido, respectivamente). Sin embargo los resultados de los coeficientes de correlación entre plasma de la madre y plasma de cordón umbilical de la zona

Huasteca (0.93 para DDT, 0.88 para DDE y 0.84 para DDT total) (tabla 8) coinciden con los observados en el estudio de Waliszewski (0.93 para DDT, 0.85 para DDE y 0.87 DDT total) (Waliszewski y col. 2000), es decir, la alta asociación encontrada podría explicarse por el proceso de redistribución que sufren moléculas lipofílicas como los son los DDTs durante el embarazo, permitiendo una rápida difusión de dichos compuestos, de la madre al hijo mediante el transporte de lipoproteínas y lípidos a través de la sangre de cordón umbilical y la placenta (Russell y col., 1999). Con respecto a la población de baja exposición, la asociación de las concentraciones de DDTs entre plasma materno y plasma de cordón umbilical, fueron similares a las obtenidas en la Huasteca Potosina, lo que indicó que dicha asociación se mantiene tanto a altas concentraciones como a bajas concentraciones (tabla 8).

Este comportamiento de difusión de compuestos tóxicos como el DDT, a través del cordón umbilical es crítico si consideramos que el feto tiene un metabolismo lento debido a su pobre actividad enzimática que está en desarrollo, y por lo tanto está en riesgo de sufrir cualquiera de los efectos tóxicos reportados en la literatura asociados a la exposición al DDT y/o a sus metabolitos. Por ejemplo, nuestro grupo de investigación reportó apoptosis en células mononucleares sanguíneas periféricas de niños con concentraciones de 50 ng de DDE/ml de plasma (Pérez y col., 2003), que si se compara con los niveles encontrados en este estudio (160 ng de DDE/ml de plasma de cordón umbilical) la probabilidad de que el feto pueda estar en riesgo de sufrir el mismo efecto tóxico es muy alta.

Los niveles de DDT, DDE y DDT total en plasma de la madre y plasma de cordón umbilical de la Huasteca Potosina fueron influidos por el número de partos (figuras 7 y 8). Del análisis estadístico bivariado, se obtuvo una correlación negativa estadísticamente significativa ($p < 0.005$), es decir, las concentraciones de DDT, DDE Y DDT total, tanto en plasma materno, como en plasma de cordón umbilical disminuyeron entre el 25 y el 29 % ($r^2_{\text{DDT}} = 0.29$, $r^2_{\text{DDE}} = 0.25$ y $r^2_{\text{DDT total}} = 0.27$, en plasma materno y plasma de cordón umbilical) al ir aumentando el número de partos.

Como se esperaba, en el 100% de las muestras de plasma materno se detectó al DDE-MeSO₂, la concentración promedio fue de 118 ng/g lípido, en las mujeres de las Huasteca Potosina, que comparado, con el estudio anterior (Estudio I) es 2 veces mayor al reportado en las comunidades de Lacanjá y La Cigüeña (64 y 66 ng/g lípido, respectivamente). Además este valor concuerda con el único antecedente que se tiene en nuestro país, en el año de 1998 se cuantificó este metabolito en plasma de mujeres indígenas expuestas al DDT, obteniéndose un promedio de 140 ng/g lípido, estos análisis fueron realizados en la Universidad de Estocolmo (Bergman A., comunicación personal). Además, dicho nivel promedio del metabolito sulfonado en la Huasteca Potosina fue 51 veces mayor al cuantificado en la población de baja exposición (1.6 ng/g lípido). Existen reportes en la literatura donde se ha cuantificado al DDE-MeSO₂ en biopsias humanas de hígado (1.15 ng/g lípido) y de tejido adiposo (4.69 ng/g lípido). Los niveles encontrados en el presente estudio en plasma materno fueron de 25 a 100 veces mayores, si se comparan éstos con los niveles reportados en focas y osos polares que van de 0.7 a 100 ng/g lípido y que además están asociados a daño adrenal (hiperplasia y necrosis de la zona

fasciculada), la probabilidad de que las mujeres que viven en la Huasteca Potosina con niveles de 1.5 a 564 ng/g lípido presenten un riesgo similar es muy grande. El escenario es aún más crítico en los neonatos ya que la concentración promedio de DDE-MeSO₂ que se cuantificó en plasma de cordón umbilical fue de 94 ng/g lípido; además se observó que dicho metabolito no disminuyó al aumentar el número de partos, lo que implica que probablemente el metabolito sulfonado se está almacenando en glándula adrenal. Ésta hipótesis surge debido a que se ha reportado que el DDE-MeSO₂ tiene afinidad hacia la zona fasciculata de tejido humano de la glándula adrenal (Lindhe y col., 2005). Una vez que el DDE-MeSO₂ llega a dicho tejido es bioactivado a través del citocromo p-45011β1, es decir, produce especies químicas muy reactivas (compuestos electrofílicos) con gran afinidad por los nucleófilos (el ADN, las proteínas y los lípidos son nucleófilos), por lo tanto genera productos de aducción de ADN y proteínas que traen como consecuencia la degeneración mitocondrial, vacuolización, inflamación (hiperplasia) y finalmente la muerte celular (necrosis) de la zona fasciculata de la glándula adrenal (Jonsson, 1993) (Lindhe y col., 2005). Al disminuir la actividad del citocromo p-45011β1, disminuye la síntesis de cortisol, por lo tanto se altera el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, así como también ocurre una hipoglucemia y una respuesta al estrés e inmune alteradas (Smith, 1992).

Otra manera de relacionar los niveles de DDT y sus metabolitos entre la madre y su hijo, es analizando las concentraciones de éstos en leche materna. Las concentraciones encontradas en la zona Huasteca fueron hasta 9 veces mayores a las determinadas en la zona de baja exposición. Las mujeres Huastecas presentaron

niveles mayores de DDT total (745 ng/g lípido) a las reportadas en la misma zona del Estudio I (536 ng/g lípido) (1.3 veces más) (López y col., 2006) y a los cuantificados en la población de baja exposición (99 ng/g lípido) (7.5 veces más). A pesar de que se encontraron concentraciones menores en la leche materna de DDT y DDE en la zona Huasteca (126 y 503 ng/g lípido, respectivamente), en comparación al Sureste Mexicano (348 y 1517 ng/g lípido, respectivamente) (Estudio I), se encontraron valores hasta 9 veces mayores de DDE-MeSO₂ (1.3 ng/g lípido en el Sureste y 7 ng/g lípido en la Huasteca Potosina), 70 veces mayores a los determinados en la población de baja exposición (0.1 ng/g lípido) y 22 veces mayores al reportado por Noren y col., en un estudio realizado en 1996 (0.4 ng/g lípido). Por lo tanto el neonato está ingiriendo una carga importante de este compuesto, y no solo a través de sangre de cordón umbilical, sino también a través de leche, esto potencia aún más el riesgo de que el neonato presente un efecto adrenotóxico.

La transferencia del DDT y sus metabolitos a la leche materna depende de su concentración en plasma materno y sus propiedades lipofílicas (Noren y col., 1983). Estos compuestos atraviesan las membranas de la barrera entre la sangre y las células de las glándulas mamarias, fluidificando la bicapa lipídica y debilitando las fuerzas hidrofóbicas y electrostáticas que establecen un equilibrio entre las concentraciones existentes en ambos lados de la membrana celular (Batten y col., 1995). En el presente estudio se encontró una correlación entre las concentraciones de DDE en plasma materno y DDE en leche materna de la zona Huasteca ($r=0.50$, $r^2=25$, $p<0.001$), es decir, el 25% del DDE que se encontró en la leche provienen del plasma materno (tabla 8). De la misma manera el 18% del DDE en la leche materna

proviene del plasma de cordón umbilical ($r=0.42$, $r^2= 0.18$, $p<0.001$). Estas asociaciones, también fueron similares en la zona de baja exposición.

El DDT y sus metabolitos almacenados en tejido adiposo son removidos durante el embarazo y el periodo de lactancia, siendo éstos eliminados a través de la leche materna. La cantidad de estos compuestos que se elimina por leche es modificada por la edad de la madre y por el número de partos, entre mayor sea el número de partos, menor será la cantidad eliminada (Czaja y col., 1998). La concentración de DDTs que se elimina por leche también es modificada por el tiempo de lactancia. Es decir, la leche derivada del primer embarazo tiene una mayor concentración de DDT y sus metabolitos que la generada en los embarazos subsecuentes, por lo que, el nivel de exposición de los hijos primerizos es mayor que el registrado en sus hermanos (Czaja y col., 1997). En nuestro estudio no se encontró esta correlación entre la edad de la madre, el número de partos, el tiempo de lactancia y los niveles de DDT y sus metabolitos. Esto se puede explicar a que la población seleccionada en la zona Huasteca está expuesta crónicamente al DDT residual y a que las muestras de leche materna que se obtuvieron fueron solamente del último neonato.

Los últimos estudios que se tienen registrados en la literatura sobre los niveles de DDE-MeSO₂ en leche materna son los reportados en mujeres suecas en 1992 (Noren y col., 1996), en este estudio se encontraron niveles promedio de 0.4 ng/g lípido. Los detectados en el presente trabajo van de 20 a 64 ng/g lípido en el Estudio I y de 1.5 a 564 ng/g lípido en el Estudio II. Se ha reportado una correlación entre las concentraciones del DDE-MeSO₂ y las concentraciones del

DDE, tanto en biopsias de hígado humano ($r=0.69$) como en biopsias de tejido adiposo humano ($r=0.67$) (Chu y col., 2003). Esta asociación solo se observó en leche materna del Estudio II entre el DDE-MeSO₂ y el DDT ($r=0.77$), entre el DDE-MeSO₂ y el DDE ($r=0.72$) y entre el DDE-MeSO₂ y el DDT total ($r=0.77$), todos con una $p<0.001$. Es decir, de un 50 a un 59% las concentraciones de DDE-MeSO₂ provienen de las concentraciones de DDT, DDE y DDT total sanguíneos ($r^2=0.50$, $r^2= 0.52$ y $r^2= 0.59$; respectivamente) ($p<0.001$) (figura 9).

El ADI promedio de la población Huasteca fue de 32 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$, de ésta, el 40% superó el valor reportado por la OMS que es de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ (WHO/FAO, 1985). Por lo tanto los neonatos que están ingiriendo dosis mayores a las recomendadas, tienen una mayor probabilidad de presentar daño hepático (activación de las enzimas microsomales), ya que el ADI fue estimado para este efecto tóxico (WHO/FAO, 1985). No así para la población de baja exposición, la cual obtuvo un valor promedio de 2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$.

Si bien es cierto que no es válido hacer comparaciones entre estudios realizados en modelos animales y en humanos, es de llamar la atención los niveles encontrados tanto de DDT como de sus metabolitos en las diferentes matrices estudiadas (plasma materno, plasma de cordón umbilical y leche materna) en mujeres del Sureste Mexicano y de la Huasteca Potosina, ya que éstos son muy superiores a los reportados en animales. En el caso particular del DDE-MeSO₂ las concentraciones detectadas, en focas y osos polares, están asociadas con daño adrenotóxico.

CONCLUSIONES

Con los resultados que se obtuvieron se demostró que la población que vive en zonas endémicas de malaria en México está expuesta crónicamente al DDT residual y a sus metabolitos, aun cuando dicho plaguicida se dejó de utilizar en el año 2000. Esto debido a sus propiedades lipofílicas y a su alta permanencia en el ambiente. Por ser compuestos que se bioacumulan y biomagnifican, las rutas de exposición han cambiado, con este estudio se demostró que además de las ya reportadas (suelo y sedimento), se tiene que considerar de manera importante a la leche materna.

El haber cuantificado niveles importantes de DDT y sus metabolitos en plasma materno implica que podría existir un riesgo a la salud de la madre, pero lo más importante es que ésta se convierte en una fuente de exposición para el lactante. Se comprobó que el neonato está expuesto a dichos contaminantes desde la gestación, ya que se detectaron niveles importantes de DDTs en plasma de cordón umbilical de los mismos. Los niveles cuantificados en leche materna de DDT y sus metabolitos, reflejan que estos se eliminan a través de ésta, convirtiéndose en la principal fuente de exposición del neonato durante sus primeros meses de vida.

Los plaguicidas organoclorados y sus metabolitos se enlazan para su transporte sanguíneo a las estructuras químicas lipofílicas más complejas, como proteínas, lipoproteínas, fosfolípidos, albúminas y quilomicrones, formando un complejo miscible en agua. De esta forma los plaguicidas organoclorados, se distribuyen en el

organismo a través del torrente circulatorio alcanzando los sitios de almacenamiento, donde se depositan debido a sus propiedades físico-químicas de los compuestos, al proceso de partición entre los componentes transportadores del suero y los lípidos de la membrana celular. Del tejido adiposo, los plaguicidas organoclorados se liberan al suero de acuerdo con el coeficiente de partición (K_p) (Haddad y col, 2000), siendo distribuidos uniformemente por todo el organismo. El K_p para el DDT total es igual a 0.85, es decir por cada unidad de DDT total que se tiene en tejido adiposo hay 0.85 en plasma, por lo tanto la concentración de DDT total en plasma es un buen biomarcador para estimar los niveles de éstos en tejido adiposo (Waliszewski y col., 2000).

Los niveles de DDT y sus metabolitos tanto en plasma de la madre como en plasma de cordón umbilical no fueron significativamente diferentes, esto implica que los compuestos están en circulación y/o depositados en tejidos, es decir se encuentran en equilibrio según su coeficiente de partición (K_p igual a 0.94 entre plasma materno y plasma de cordón umbilical) (Kurtz y col., 1976).

Los niveles de DDE-MeSO₂ en plasma de las madres de la zona de alta exposición (Huasteca) fueron 14 veces mayores a los encontrados en leche materna. En cambio las concentraciones en leche materna de DDE-MeSO₂ fueron significativamente menores a las concentraciones de DDT y DDE en la misma matriz, probablemente porque el DDE-MeSO₂ se está quedando depositado en la glándula adrenal. Si esto fuese cierto, la probabilidad de que estas mujeres presenten un

efecto tóxico como lo es la hiperplasia y la necrosis de la glándula adrenal (reportado en modelos animales) sería muy grande.

El neonato estuvo expuesto a una carga importante de DDTs desde la gestación (por las concentraciones encontradas en plasma de cordón umbilical) y ahora su principal fuente de exposición es la leche materna (concentraciones promedio de 745 ng de DDT Total/g lípido), tomando en cuenta la toxicidad de dichos compuestos, es importante diseñar un programa de reducción de riesgo en los infantes, sobre todo porque la leche es el primer alimento y el único durante los dos primeros años de vida en este tipo de comunidades.

Con este estudio se demostró la presencia del DDE- MeSO₂ en plasma materno, en plasma de cordón umbilical y en leche materna de mujeres Mexicanas. En modelos animales en concentraciones menores a las aquí reportadas se han registrado efectos adrenotóxicos, por lo tanto, es de vital importancia continuar estudiando a la población más susceptible que son los niños y evaluar la presencia o no de este efecto.

BIBLIOGRAFIA

Aguirre A., Waliszewski S., Infanzón F. (2001). Ventajas y desventajas del uso del DDT en el combate del paludismo. *La Ciencia y el Hombre*. 32, 17-29.

Albert L. A. (1996). Persistent Pesticides in Mexico. *Environmental Contamination and Toxicology*. 147:1-44.

ATSDR (2001). Toxicological profile for 4,4'.DDT, 4,4'-DDE, and 4,4'-DD. Agency for Toxic Substances and Diseases Registry. US Public Health Service. Atlanta, GA.

Batten P. Hutson D. (1995). The mammalian metabolism of agrochemicals. Wiley, Nueva York, 278-280.

Calow, P. (1993). Handbook of Ecotoxicology. Phillips D.J.H. "Bioaccumulation". Volume 1, 378-392.

Castro F. J. (1998) "Panorama Histórico y Epidemiológico del Paludismo en México", Secretaria de Salud, México.

Chu S., Covace A., Jacobs W., Haraguchi K., Schepens P. (2003). Distribution of methyl sulfone metabolites of polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE in human tissues. *Environmental Health Perspective*. 111 (9), 1222-1227.

Coon M., Ding X., Pernecky S. (1992). Cytochrome P450: progress and predictions. *Rev Pharmacology Toxicology*. 6, 669-673.

Czaja K., Ludwicki J., Góralczyk K., Strucinski P. (1997). Effect of age and number of deliveries on mean concentration of organochlorine compounds in human breast milk in Poland. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology*. 59, 407-413.

Díaz-Barriga F., Borja-Aburto V., Waliszweski S., Yañez L. (2002). DDT in Mexico. *The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 3. Persistent Organic Pollutants*. Chapter 14.

Diechmann W. y Keplinger M. (1996). Effect of combinations of pesticides on reproduction of mice. *Toxicology and Applied Pharmacology* 8:337-338.

EURACHEM, Eurachem Guide (1998). Europa Analytical Chemistry. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. A focus for analytical chemistry in Europe.

Haddad S., Poulin P., Krishnan K. (2000). Relative lipid contents as the sole mechanistic determinant of the adipose tissue: blood partition coefficients of highly lipophilic organic chemicals. *Chemosphere* 40, 839-843.

Hevmdricky A., Maes R. (1969). The excretion of chlorinated hydrocarbon insecticides in human mother milk. *Journal Pharmacology Belg* 24: 459-463.

Hong J., Yang C. (1997). Genetic polymorphism cytochrome P450 as a biomarker of susceptibility to environmental toxicity. *Environmental Health Perspectives*, 105 (Suppl 4): 759-762.

Hovander L., Athanasiadou M., Asplund L., Jensen S., Klasson W. (2000). Extraction and cleanup methods for analysis of phenolic and neutral organohalogens in plasma. *Journal Analytic and Toxicology*. 24, 696-703.

Hovander L., Linderholm L., Athanasiadou M., Athanassiadis I., Trnovec T., Kocan A., Petrik J., Bergman A. (2004). Analysis of PCB and PCB metabolites in Humans from Eastern Slovakia. *Organohalogen Compounds*. (66), 3525-3551.

Jenssen, S. and Jansson, B., (1976). Antropogenic substances in seal from the Baltic: Methyl sulfone metabolites of PCB and DDE. *Ambio, A Journal of the Human Environment*. 5, 257-260.

Jonsson H., Walker E., Greene W., Hughson M., Hennigar G. (1981), Effects of prolonged exposure to dietary DDT and PCB on rat liver morphology. *Archives Environmental Contamination and Toxicology* 10:171-183.

Jonsson C.J., Rodríguez-Martínez H., Lund B.O., Bergman A. and Brandt I. (1991). Adrenocortical Toxicity of 3-Methylsulfonyl-DDE in Mice. *Fundamental and Applied Toxicology*. 16, 365-374 .

Jonsson C.J. and Lund B.O. (1994). In vitro bioactivation of the environmental pollutant 3-methylsulphonyl-2,2-bis(4-chlorophenyl)-1,1-dichloroethene in the human adrenal gland. *Toxicology Lett.* 6, 233-240.

Johansson M. (1998). Effects of aryl methyl sulfones on the glucocorticoid homeostasis. Licentiate Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Faculty of Veterinary Medicine. Department of Pharmacology and Toxicology.

Kanja, L.W., Skaare J.U., Ojwang S.B.O. and Maitai C.K. (1992). A comparison of Organochlorine pesticide residues in maternal adipose tissue, maternal blood, cord blood, and human milk from mother/infant pairs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 22, 21-24.

Kelce W.R., Stone C.R., Gray L.E., Kemppainen J.A., Wilson E.M. (1995). Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature.* 375, 581-585.

Kurtz F., Yobs A., Strassman S. (1976). Organochlorine pesticide residues in human adipose tissue. *Bulletin Soc Pharmacology Environmental and Pathology,* 4:17-19.

Letcher, R. J. (1996). The Ecological and Analytical Chemistry of Chlorinated Hydrocarbon Contaminants and Methyl Sulfonyl-Containing metabolites of PCBs and 4,4-DDE in the polar Bear. PhD Thesis.

Lindhe O., Skogseid B., Brandt I. (2005). Cytochrome P450-catalyzed binding of 3-methylsulfonyl-DDE and o,p'-DDD in human adrenal zona fasciculata/reticularis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(3):1319-1326.

López D., Yáñez L., Athanasiadou M., Bergman A., Herrera C., Díaz-Barriga F. (2006). Determinación de los niveles de DDT, DDE y DDE-MeSO₂ en leche materna y sangre de poblaciones contaminadas por DDT en México. *Acta Toxicológica Argentina*, 14: 34-36.

Lucas D., Ferrara R., Gonzalez E., Albores A., Manno M., Berthou F. (2001). Cytochrome CYP2E1 phenotyping and genotyping in the evaluation of health risks from exposure to polluted environments. *Toxicology Letters*, 124 (1-3): 71-82.

Lund, B. O., Bergman A. and Brandt I. (1988). Metabolic activation and toxicity of a DDT-metabolite, 3-methylsulphonyl-DDE, in the adrenal zona fasciculata in mice. *Chemico-Biological Interactions*. 65, 25-40.

Miller J. C., Miller J. N. (1995). *Estadística para Química Analítica*. 2ª. Edición. Editorial Addison-Wesley Iberoamericana. Págs: 87-107.

Noren K. (1983). Some aspects of the determination of organochlorine contaminants in human milk. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 12, 277-283.

Noren K., Lunden A., Petterson E., Bergman A. (1996). Methylsulfonyl metabolites of PCBs and DDE in Human Milk in Sweden 1972-1992. *Environmental Health Perspectives*. 104, 766-771.

OMS (1982). DDT y sus derivados. *Criterios de Salud Ambiental 9*. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

Payne J., Scholze M. and Kortenkamp A. (2001). Mixtures of four organochlorines enhance human breast cancer cell proliferation. *Environmental Health Perspectives*. 109, 391-397.

Pérez M. I., Díaz-Barriga F., De la Fuenta H., González-Amaro R., Calderón J., Yáñez L. (2003). DDT induces apoptosis in human mononuclear cells in vitro and is associated with increased apoptosis in exposed children. *Environmental Research*. 94, 38-46.

Rivero O., Rizo P., Ponciano G. Y Oláiz G. (2001). Daños a la salud por plaguicidas. Yáñez L., Ortiz M.D., Díaz-Barriga F. *Marcadores de exposición y daño en poblaciones expuestas a plaguicidas*. 129-144. Ed. Manual Moderno.

Rogan W.J., Gladen B.C., McKinney J.D., Carreras N., Hardy P., Thullen J., Tinglestad J., and Tully M. (1986). Neonatal effects of transplacental exposure to PCBs and DDE. *The Journal of Pediatrics*. 109, 335-340.

Rogan W.J., Gladen B.C., McKinney, et al. (1986). Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethene (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. *Ambio Journal Public Health*. 76:172-177.

Russell R., Gobas F. Haffner G. (1999). Maternal transferer and in ovo exposure of organochlorines in oviparous organism: A model and field verification. *Environ Sci Technology* 33, 416-420.

Tiernan, H. (2002). Airborne Contaminants and the Great Lakes. Great Lakes Online, Wisconsin Sea Grant Publications. March 22, 2002.

<http://www.seagrant.wisc.edu/Communications/Publications/One-pagers/aircontam.html>

Torres L., López L., Torres L., Cebrián M., Rueda C., Reyes R., López M. (1999). Levels of dichloro-dyphenyl-trichloroethane (DDT) metabolites in maternal milk and their determinant factors. *Archives of Environmental Health*. 54,124-129.

Yáñez E. L. (2000). Efecto genotóxico del DDT en comunidades indígenas con Paludismo endémico. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Medicina. Laboratorio de Toxicología Ambiental.

Yáñez L., Ortiz-Pérez D., Batres L., Borja-Aburto V., Díaz-Barriga F. (2002). Levels of Dichlorodiphenyltrichloroethane and Deltamethrin in Humans and Environmental Samples in Malarious Areas of México. *Environmental Research Section A*. 88, 174-181.

Waliszewski, S. M. (1997). Contaminación de leche materna por plaguicidas organoclorados. *La Ciencia y el Hombre*. 25, 23-35.

Waliszewski, S. Aguirre A., Infanzón F., Siliceo J. (2000). Carry –over of persistent organochlorine pesticides throug placenta to fetus. *Salud Pública de México*. Septiembre-octubre, vol. 42, número 5, 384-390.

Waliszewski, S., Bermúdez M., Infazón R. (2002). Niveles de DDT en Tejido Adiposo Materno, Suero Sanguíneo y Leche de Madres Residentes en Veracruz, México. *Revista Internacional de Contaminantes Ambientales*. 18 (1), 17-25.

Weistrand C., Noren K. (1997). Methylsulfonyl Metabolities of PCBs and DDE in Human Tissues. *Envoronmental Health Perspective*. 105 (6), 644-649.

Welch R., Levin W. y Conney A (1969). Estrogenic action of DDT and its analogs. *Toxicology Applied Pharmacology*. 14:358.

WHO/FAO (1985). Joint FAO/WHO meeting on pesticida residues. Pesticide residues in food 1984: Teport Paper 62. FAO Plant Production and Protection.

Wijeyaratne, P. (1993). Control of disease vectors: Acurrent perspective in “Impact of Pesticide Use on Health in Developing Countries” (G. Forget, T. Goodman, and A. de Villiers Eds.), pp 263-279. International Development Research Centre, Ottawa.

Tabla 1. Características de edad y número de partos de la población participante con muestras de sangre venosa en el Estudio I

	Edad (años)	Número de Partos
	Media \pm DE	Media
Chiapas		
Lacanjá	23 \pm 11	2
(n=9)	(15 - 50)	(0 - 7)
La Cigüeña	25 \pm 8	2
(n=9)	(17 - 38)	(0 - 5)
Quintana Roo		
El Ramonal	31 \pm 8	4
(n=10)	(20 - 48)	(2 - 12)
Oaxaca		
Ventanilla	25 \pm 5	2
(n=12)	(17 - 33)	(1 - 5)

Muestras colectadas por conveniencia de mujeres del Sureste Mexicano (Lacanjá, Chis., La Cigüeña, Chis., El Ramonal Q. Roo y Ventanilla, Oax.). La colecta fue realizada durante el 2004. n = número de muestras. DE = desviación estándar. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo.

Tabla 2. Características de edad y número de partos de la población participante con muestras de leche materna en el Estudio I

	Edad (años)	Número de Partos
	Media \pm DE	Media
Quintana Roo		
El Ramonal	25 \pm 3	4
(n=7)	(23 - 29)	(2 - 6)
Chiapas		
La Cigüeña	23 \pm 7	3
(n=11)	(15 - 34)	(1 - 5)
Tapachula	26 \pm 7	2
(n=11)	(17 - 37)	(1 - 4)
Faja de Oro	24 \pm 8	3
(n=12)	(16 - 39)	(1 - 7)
San Luís Potosí		
Huasteca	25 \pm 8	2
(n=10)	(18 - 39)	(1 - 5)

Muestras colectadas por conveniencia de mujeres del Sureste Mexicano (El Ramonal, Q Roo, La Cigüeña, Chis., Tapachula, Chis. y Faja de Oro, Chis.) y de San Luís Potosí (Huasteca). Las muestras fueron colectadas durante el 2004. n = número de muestras. DE = desviación estándar. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo.

Tabla 3. Concentraciones de DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ en plasma de mujeres del Sureste Mexicano

	Lacanjá, Chis. (n=9) Mediana	El Ramonal, Q Roo (n=10) Mediana	La Cigüeña, Chis. (n=9) Mediana	Ventanilla, Oax. (n=12) Mediana
DDT	1323 (551-7433)	748 (158-3222)	424 (322-851)	335 (145-1111)
DDE	3738 (1291-18080)	1271 (204-6636)	1059 (0.4-1795)	1362 (195-5351)
DDD	236 (174-688)	162 (81-391)	144 (0.4-164)	145 (112-248)
DDT total	5273 (2062-26201)	2259 (472-10249)	1596 (327-2646)	1861 (452-6666)
DDE- MeSO₂	64 (13-158)	20 (11-48)	66 (19-191)	43 (12-139)

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. Muestras colectadas por conveniencia de mujeres del Sureste Mexicano. n = número de muestras. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo. DDT total es la suma de las concentraciones de DDT, DDE y DDD.

Tabla 4. Concentraciones de DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ en leche materna de mujeres del Sureste Mexicano y de la Huasteca Potosina

	El Ramonal, Q Roo (n=7) Mediana	La Cigüeña, Chis. (n=11) Mediana	Tapachula, Chis. (n=11) Mediana	Huasteca, SLP (n=10) Mediana	Faja de Oro, Chis. (n=12) Mediana
DDT	911 (323-2071)	134 (5-470)	17 (0.04-950)	46 (7-889)	18 (0.04-137)
DDE	3100 (1153-15875)	764 (121-3128)	683 (26-3003)	490 (101-2735)	268 (40-1371)
DDD	1.2 (0.05-3831)	0.19 (0.03-92)	0.3 (0.06-135)	0.09 (0.03-0.20)	0.09 (0.04-2.85)
DDT total	4287 (1508-20834)	926 (126-3500)	778 (27-3953)	536 (110-3624)	300 (44-1489)
DDE-MeSO₂	2.8 (0.2-9.0)	1.2 (0.5-4.2)	0.5 (0.06-38)	1.4 (0.3-3.2)	0.4 (0.02-7.8)

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. Muestras colectadas por conveniencia de mujeres del Sureste Mexicano y de la Huasteca Potosina. n = número de muestras. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo. DDT total es la suma de las concentraciones de DDT, DDE y DDD.

Tabla 5. Características de las mujeres participantes en el Estudio II

	Huasteca Potosina	Ciudad de San Luís Potosí
	(Alta exposición)	(Baja Exposición)
	(n=32)	(n=20)
	Media ± DE	Media ± DE
Edad (años)	25 ± 5 (16 – 36)	24 ± 6 (17 – 39)
Número de Partos	3 ± 2 (1 – 9)	2 ± 2 (1 – 6)
Tiempo de lactancia (días)	33 ± 25 (1 – 94)	49 ± 12 (2 – 56)

Muestras colectadas para la evaluación de la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos en la Huasteca Potosina (población de alta exposición, mujeres de la zona sur de la Huasteca Potosina, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas) y en una población de baja exposición (mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí) durante el 2006. n = número de muestras. DE = desviación estándar. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo.

Tabla 6. Comparación de los niveles de DDT y sus metabolitos en plasma de mujeres de la Huasteca Potosina y de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí

	Huasteca Potosina	Ciudad de San Luís Potosí
	(Alta exposición)	(Baja Exposición)
	(n=32)	(n=20)
	Media ^a ± EE	Media ^a ± EE
DDT	319 ± 66 (0.4 – 1778)	130 ± 33 (0.9 – 632)
DDE	844* ± 190 (94 – 4879)	287 ± 46 (81 – 884)
DDD	3.8 ± 27 (0.6 – 640)	10 ± 13 (0.8 – 172)
DDT total	1339* ± 236 (95 – 5514)	539 ± 61 (177 – 1331)
DDE-MeSO₂	101* ± 20 (1.5 – 564)	1.7 ± 0.3 (0.6 – 6)

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. Muestras colectadas para la evaluación de la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos en la Huasteca Potosina (población de alta exposición, mujeres provenientes de la zona sur de la Huasteca Potosina, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas) y en mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí (población de baja exposición). DDT total es la suma de las concentraciones de DDT, DDE y DDD. ^a Media geométrica. EE = error estándar. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo. *p < 0.001.

Tabla 7. Comparación de los niveles de DDT y sus metabolitos en plasma de cordón umbilical de la zona Huasteca y de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí

	Huasteca Potosina	Ciudad de San Luís Potosí
	(Alta exposición)	(Baja Exposición)
	(n=32)	(n=20)
	Media ^a ± EE	Media ^a ± EE
DDT	255 ± 53 (0.3 – 1422)	125 ± 25 (2 – 373)
DDE	675* ± 152 (75 – 3903)	285 ± 44 (95 – 814)
DDD	3.6 ± 21 (0.6 – 512)	10 ± 17 (0.8 – 254)
DDT total	1072* ± 189 (76 – 4412)	517 ± 62 (152 – 1383)
DDE-MeSO₂	82* ± 16 (1.2 – 461)	1.6 ± 0.2 (0.7 – 5)

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. Muestras colectadas para la evaluación de la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos en la Huasteca Potosina (población de alta exposición, mujeres de la zona sur de la Huasteca Potosina, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas) y en mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí (población de baja exposición). DDT total es la suma de las concentraciones de DDT, DDE y DDD. n = número de muestras. ^a Media geométrica. EE = error estándar. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo. *p < 0.001.

Tabla 8. Coeficientes de correlación entre las concentraciones de los DDTs en las diferentes matrices biológicas

	Huasteca Potosina (Alta exposición) (n=32)	Ciudad de San Luís Potosí (Baja Exposición) (n=20)
DDT_{PM} – DDT_{PCU}	0.93*	0.93*
DDT_{PM} – DDT_{LM}	0.24	0.29
DDT_{PCU} – DDT_{LM}	0.22	0.28
DDE_{PM} – DDE_{PCU}	0.88*	0.92*
DDE_{PM} – DDE_{LM}	0.50*	0.49*
DDE_{PCU} – DDE_{LM}	0.42*	0.39*
DDD_{PM} – DDD_{PCU}	0.74*	0.80*
DDD_{PM} – DDD_{LM}	0.002	0.002
DDD_{PCU} – DDD_{LM}	0.002	0.002
DDT Tot_{PM} – DDT total_{PCU}	0.84*	0.84*
DDT Tot_{PM} – DDT total_{LM}	0.49*	0.50*
DDT Tot_{PCU} – DDT total_{LM}	0.38*	0.39*
DDE-MeSO₂_{PM} – DDE-MeSO₂_{PCU}	0.92*	0.93*
DDE-MeSO₂_{PM} – DDE-MeSO₂_{LM}	0.005	0.004
DDE-MeSO₂_{PCU} – DDE-MeSO₂_{LM}	0.005	0.005

Las concentraciones (ng/g lípido) fueron transformadas a logaritmo antes del análisis estadístico. Huasteca Potosina (población de alta exposición, mujeres provenientes de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas). Ciudad de San Luís Potosí (población de baja exposición, mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad). DDT total es la suma de las concentraciones de DDT, DDE y DDD. Plasma Materno (PM), Plasma de Cordón Umbilical (PCU) y Leche Materna (LM). *p<0.001.

Tabla 9. Comparación de los niveles de DDT y sus metabolitos en leche materna entre las mujeres de la Huasteca Potosina y las mujeres de la ciudad de San Luís Potosí

	Huasteca Potosina	Ciudad de San Luís Potosí
	(Alta exposición) (n=32)	(Baja Exposición) (n=20)
	Media ^a ± EE	Media ^a ± EE
DDT	126* ± 178 (19 – 5661)	28 ± 5 (13 – 121)
DDE	503* ± 168 (37 – 4423)	54 ± 14 (20 – 312)
DDD	19* ± 19 (0.1 – 559)	6 ± 2 (0.1 – 34)
DDT total	745* ± 280 (69 – 6912)	99 ± 19 (33 – 433)
DDE-MeSO₂	7* ± 5 (0.15 – 176)	0.1 ± 0.05 (0.1 – 0.8)

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. Muestras colectadas para la evaluación de la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos en la Huasteca Potosina (población de alta exposición, mujeres de la zona sur de la Huasteca, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas) y en mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí (población de baja exposición). DDT total es la suma de las concentraciones de DDT, DDE y DDD. n = número de muestras.
^a Media geométrica. EE = error estándar. Entre paréntesis se presenta el valor mínimo y el máximo. *p < 0.001.

Tabla 10. Ingesta Diaria Aceptable (ADI) $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ de DDT más DDE en leche materna

	Mediana	Intervalo	%>20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}^*$
El Ramonal	141	28 – 414	100
La Cigüeña	55	4 – 147	70
Tapachula	51	1 – 165	64
Huasteca Potosina (2004)	40	2 – 124	40
Faja de Oro	19	2 - 57	25
Huasteca Potosina (2006)	31	2 – 157	40
Ciudad de San Luís Potosí	2	1 – 5	0

* Valor de referencia de la ADI (Ingesta Diaria Aceptable, por sus siglas en inglés) establecido por la OMS, 1985. Estudio I (El Ramonal, Q Roo, La Cigüeña, Chis., Tapachula, Chis., Huasteca, SLP, y Faja de Oro, Chis.). Estudio II (Huasteca Potosina: Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas, población de alta exposición; ciudad de San Luís Potosí: población de baja exposición). $ADI (\mu\text{g} / \text{kg}/\text{día}) = [\text{concentracion DDT} + \text{DDE} (\mu\text{g}/\text{L})] * [\text{tasa de ingesta de leche} (\text{L}/\text{día})] * [\text{lípidos} (\mu\text{g})]$

[peso corporal (kg)]

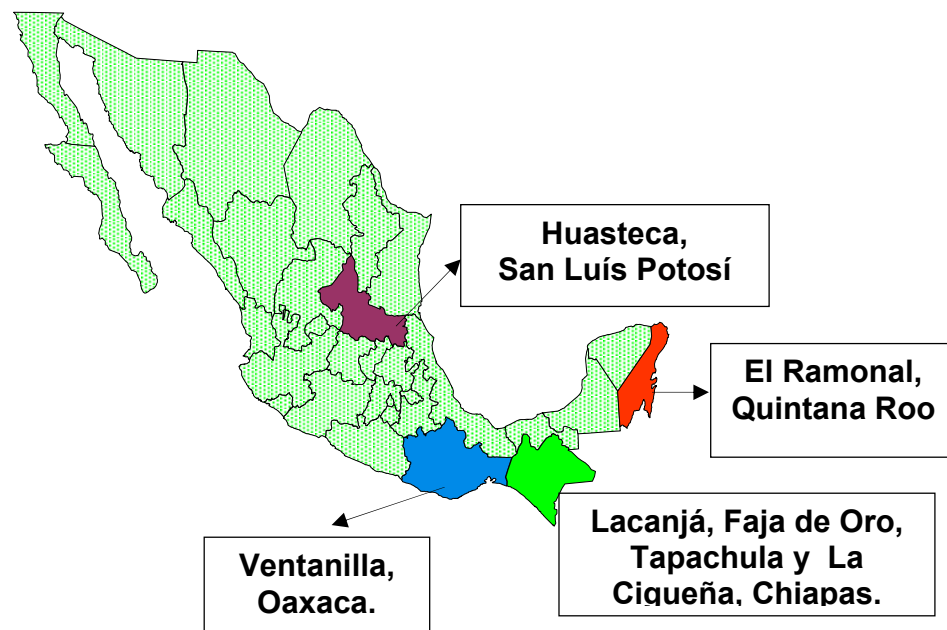


Figura 1. Zonas de estudio de la Primera Etapa (Estudio I). Ubicación de las diferentes comunidades del Estudio I, Sureste Mexicano (Oaxaca, Chiapas y Quintana Roo) y en la Huasteca (San Luis Potosí). Las muestras de sangre venosa y leche materna fueron colectadas durante el año 2004.

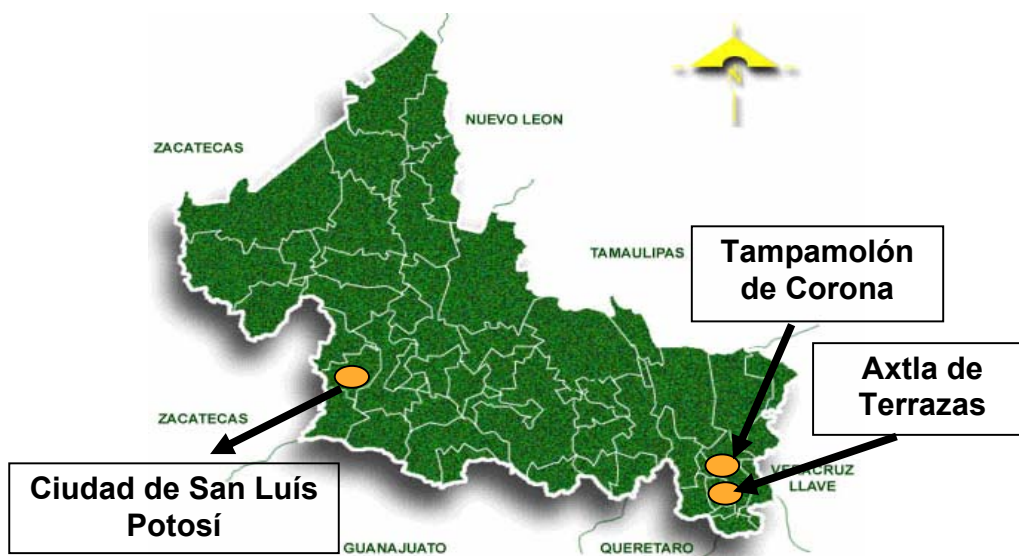


Figura 2. Zonas de estudio de la Segunda Etapa (Estudio II). Ubicación de las comunidades donde se evaluó la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos. Población de alto riesgo (Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas, Huasteca Potosina). Población de bajo riesgo (ciudad de San Luis Potosí). Las muestras de sangre venosa, sangre de cordón umbilical y leche materna fueron colectadas durante el 2006.

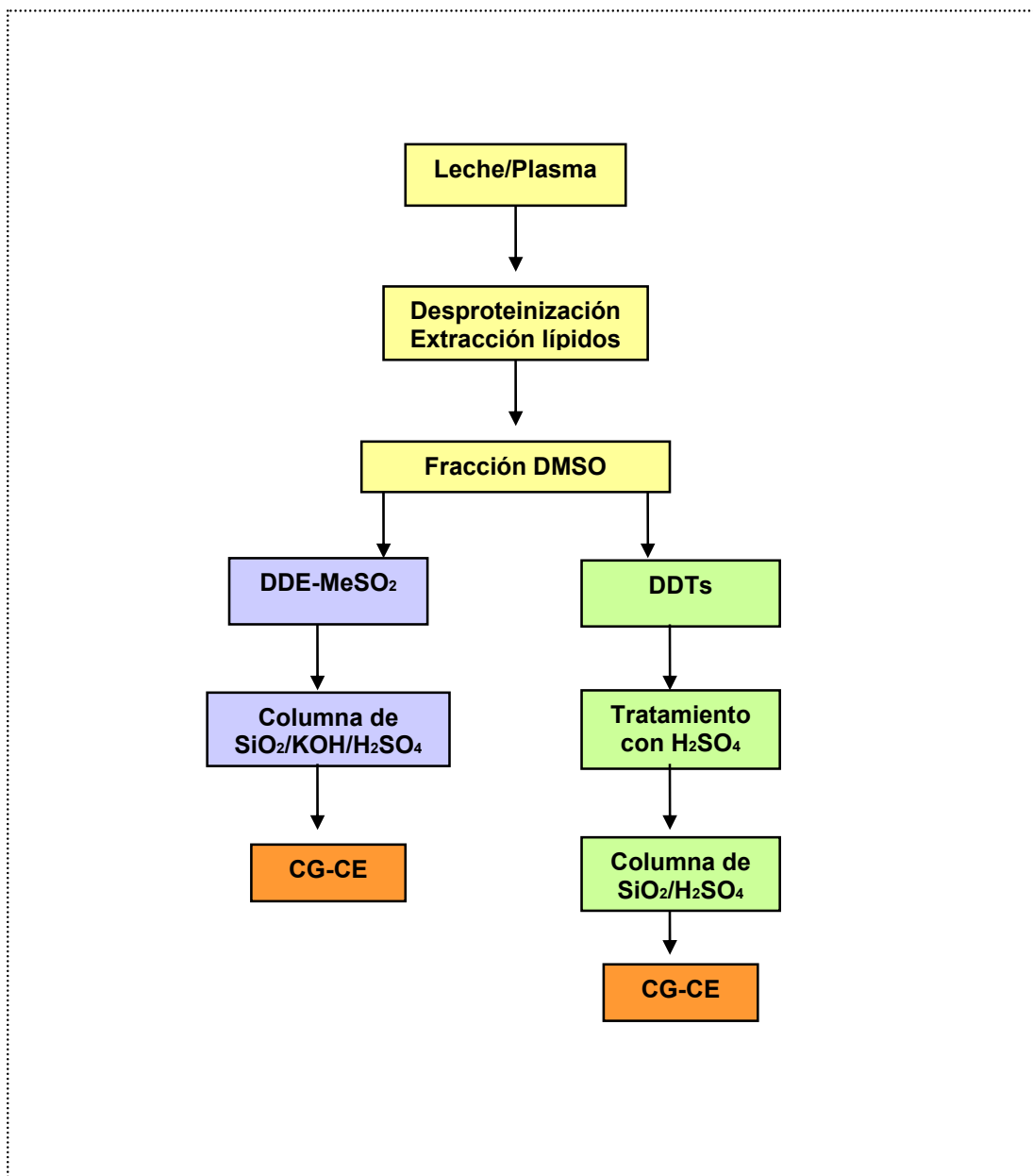


Figura 3. Esquema de la metodología de extracción del DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂. CG-CE: Cromatografía de Gases con Captura de Electrones.

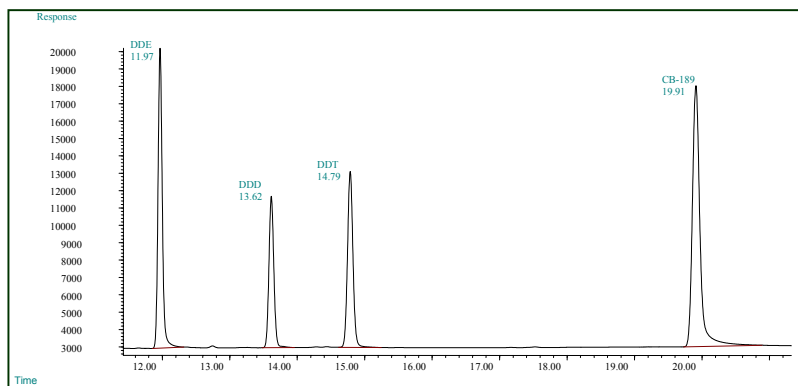


Figura 4. Cromatograma de una mezcla de DDT, DDE, DDD y CB-189. Tiempos de retención: DDE 11.97 min., DDD 13.62 min., DDT 14.79 min., y CB-189 19.91 min. (estándar interno).

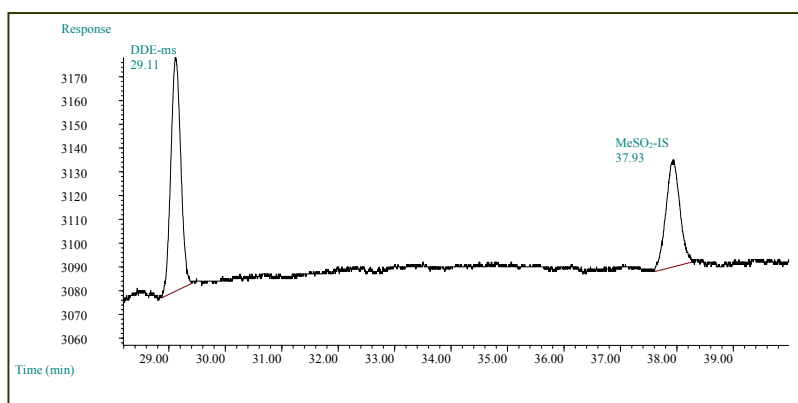


Figura 5. Cromatograma de una mezcla de DDE-MeSO₂ y MeSO₂-IS. Tiempos de retención: DDE-MeSO₂ 29.11 min., y MeSO₂-IS 37.93 min. (estándar interno).

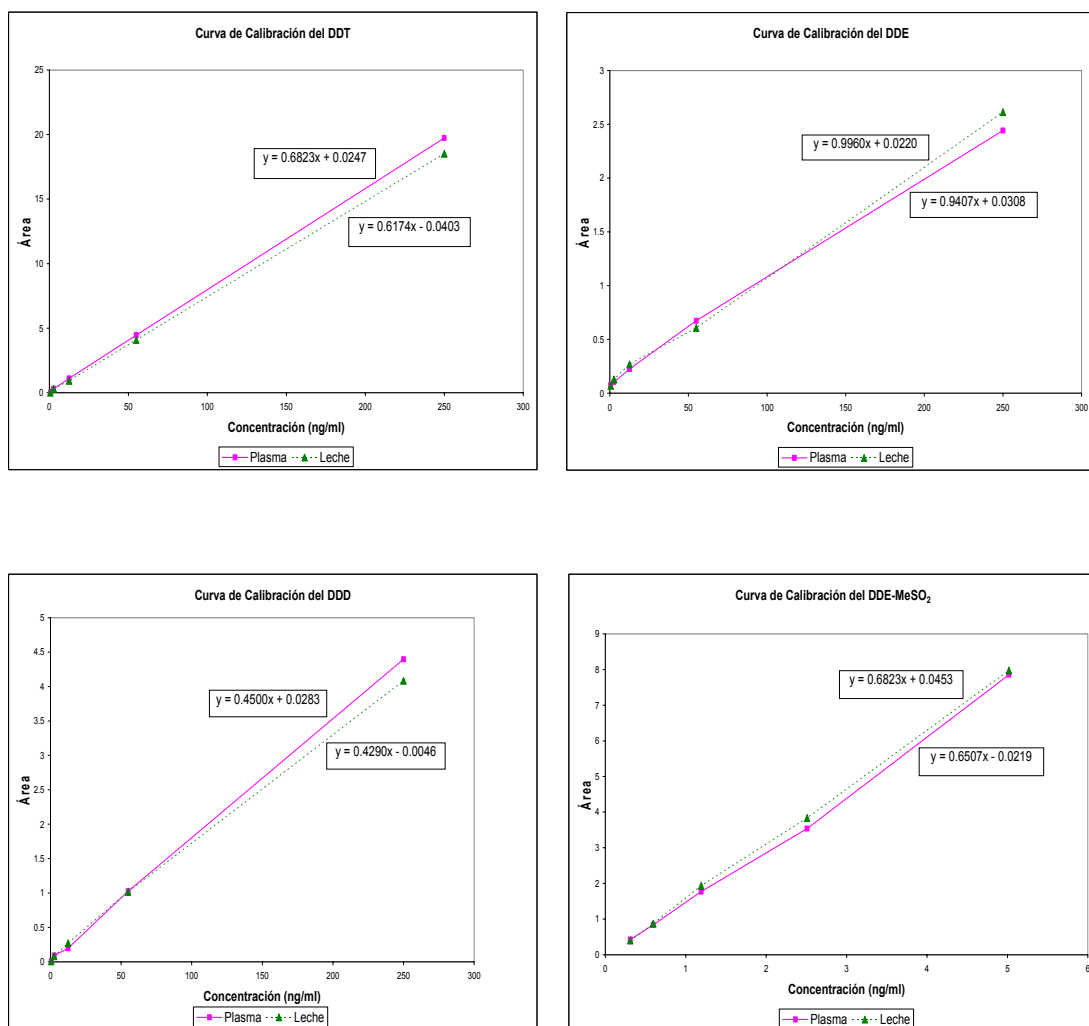


Figura 6. Curvas de Calibración para el DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂. Las curvas de calibración en plasma y leche materna son el promedio de tres replicas. Las concentraciones para el DDT, DDE y DDD fueron de 0.6, 2.7, 12.5, 55 y 250 ppb. Las concentraciones para el DDE-MeSO₂ fueron de 0.6, 1.2, 2.5, 5 y 10 ppb.

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPOSICIÓN PERINATAL AL DDT Y SUS METABOLITOS A TRAVÉS DE SANGRE Y LECHE MATERNA EN COMUNIDADES ENDÉMICAS DE PALUDISMO

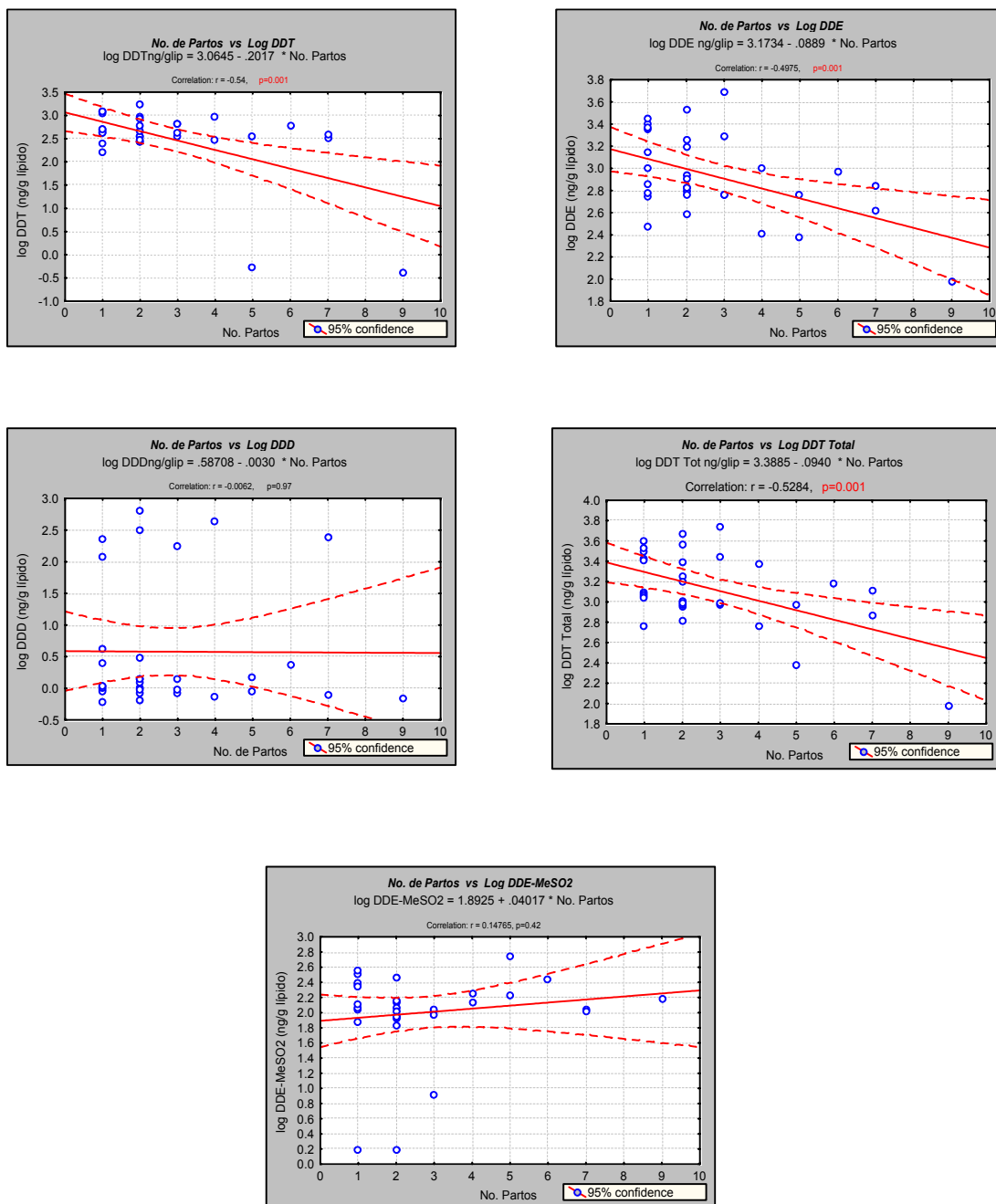


Figura 7. Correlaciones entre el logaritmo de la concentración de los DDTs en plasma materno y el número de partos en la población Huasteca. Muestras colectadas para la evaluación de la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos. Mujeres provenientes de la zona sur de la Huasteca Potosina, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas (población de alta exposición) (n=32).

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE EXPOSICIÓN PERINATAL AL DDT Y SUS METABOLITOS A TRAVÉS DE SANGRE Y LECHE MATERNA EN COMUNIDADES ENDÉMICAS DE PALUDISMO

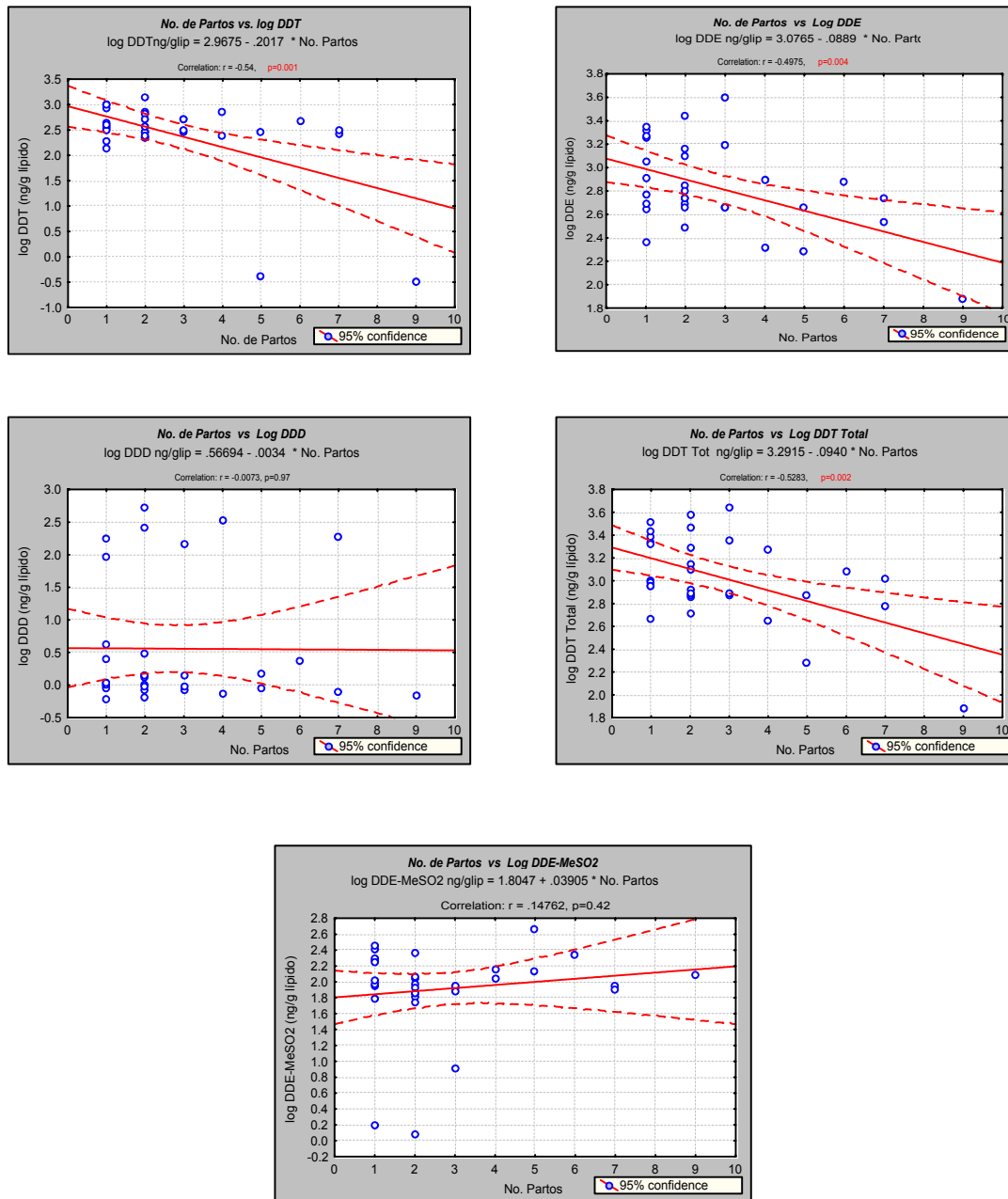


Figura 8. Correlaciones entre el logaritmo de la concentración de los DDTs en plasma de cordón umbilical y el número de partos en la población Huasteca. Muestras colectadas para la evaluación de la exposición perinatal al DDT y sus metabolitos. Mujeres provenientes de la zona sur de la Huasteca Potosina, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas (población de alta exposición) (n=32).

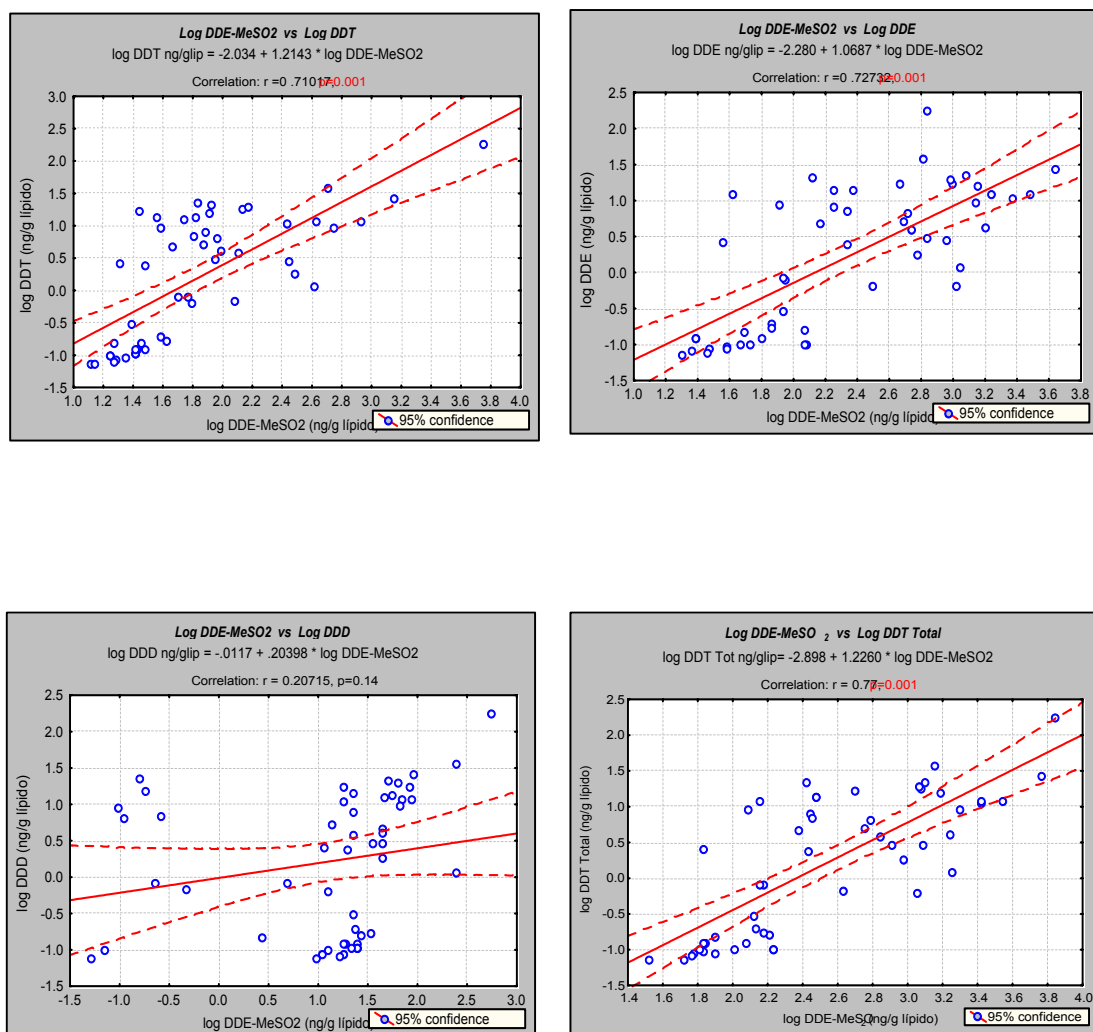


Figura 9. Correlación en leche materna entre la concentración del DDT, DDE, DDD y DDT total y la concentración del DDE-MeSO₂.

Por su distribución unimodal, para esta correlación se consideró un solo grupo n=52; 32 mujeres de la población de alta exposición (mujeres provenientes de la zona sur de la Huasteca Potosina, de las comunidades de Tampamolón de Corona y Axtla de Terrazas) y 20 mujeres de la población de baja exposición (mujeres provenientes de los alrededores de la ciudad de San Luís Potosí).

ANEXO I

Reactivos

Hexano, dietil éter, isopropanol, metil tert-butil éter y diclorometano (Burdick & Jackson grado HPLC). Ácido clorhídrico, ácido fórmico, ácido sulfúrico, cloruro de potasio e hidróxido de potasio (J. T. Baker). Sílica gel y dimetil sulfóxido (DMSO) grado biología molecular (SIGMA). 4-4'-DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano] (ULTRA Scientific, 99.4%), 4-4'-DDE [1,1-dicloro-2,2-bis(p-diclorodifenil)etileno] (ULTRA Scientific, 99.8%) y 4,4'-DDD [1,1-dicloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano] (CHEM SERVICE, 99.3%). El DDE-MeSO₂ [3-metilsulfonil-2,2-bis(4-clorofenil)-1,1-dicloroetano] (95%) y los estándares internos CB-189 (2,3,3',4,4',5,5'-heptaclorobifenilo) (97.9%) y MeSO₂-PCB-IS (3-metilsulfonil.4-metil-2',3',4',5,5'-pentaclorobifenilo) (98.9%) fueron donados por el Departamento de Química Analítica de la Universidad de Estocolmo, Suecia.

Colecta de las muestras biológicas

1. Sangre Venosa.

Se etiquetó el tubo vacutainer con heparina con los datos necesarios para su posterior identificación. Con una torunda humedecida con alcohol, se limpió la zona donde se hizo la punción. Se tomaron 15 ml de sangre venosa. Se mezcló suavemente hasta que la heparina se incorporara a la muestra de sangre, para evitar que ésta se coagulara. Posteriormente se separó el plasma del paquete globular centrifugando a 2500 rpm durante 20 min y se colocó en un tubo de vidrio con tapón

previamente codificado. La muestra de plasma se almacenó en congelación hasta su análisis y el paquete globular se desechó, siguiendo la norma establecida para ello.

2. *Sangre de cordón umbilical.*

Después de haber cortado el cordón umbilical entre el neonato y la madre, se colectaron 15 ml de sangre de cordón umbilical (sangre venosa o arterial) del segmento proximal al neonato. Los tubos se mezclaron suavemente hasta que la heparina se incorporó a la muestra de sangre, para evitar que se coagulara. Se separó el plasma del paquete globular centrifugando a 2500 rpm durante 20 min y se colocó en un tubo de vidrio con tapón previamente codificado. La muestra se almacenó en congelación hasta su análisis.

3. *Leche materna.*

La colecta se realizó de forma manual pidiéndole a la madre que se aseara con agua el área del pezón. Se recibió la muestra de leche materna directamente en un frasco de vidrio ámbar previamente codificado. La colecta se realizó por tiempos en un mismo día; es decir, después de alimentar al bebé se colectó un poco, se guardó la muestra de leche en el refrigerador; y se siguió colectando después de la siguiente toma y así sucesivamente, hasta obtener 10 ml aproximadamente. Una vez que se colectó toda la muestra, se cubrió la boca del frasco con aluminio y posteriormente con la tapa de rosca. Se conservó el frasco en congelación hasta su análisis.

Método analítico para cuantificar al DDT y sus metabolitos a partir de muestras de plasma

La extracción del DDT y sus metabolitos del plasma materno y del plasma de cordón umbilical se basó en el método desarrollado y validado por Hovander y col., 2000, el cual se divide en tres etapas:

1. Extracción de los lípidos de la muestra biológica.
2. Extracción de los analitos de los lípidos.
3. Limpieza de la muestra.

1. Extracción de los lípidos.

En un primer tubo (TUBO 1) se pesaron 5 g de plasma y se adicionaron los estándares internos (CB-189 y MeSO₂-IS), se agitó en vortex por un minuto, se mezcló por inversión durante 2h, y se dejó reposar 24h en refrigeración. Posteriormente se realizó la desnaturalización de proteínas con 6 ml de isopropanol y 1 ml de HCl 6M, se mezcló en vortex durante 20s. Después se llevo a cabo una extracción líquido-líquido con 6 ml de una mezcla de metiliterbutiléter-hexano (1:1), se mezcló por inversión durante 5 min. y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min. Los analitos obtenidos en la fase orgánica se transfirieron a un segundo tubo (TUBO 2) al cual se le habían adicionado 4 ml de KCl 1%, se mezcló por inversión 5 min y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min. Del TUBO 2 se removió y desechó la fase acuosa con ayuda de una pipeta Pasteur de punta larga. Nuevamente se agregaron 4 ml de KCl 1% al TUBO 2, se invirtió por inversión 5 min. y se centrifugó 5 min a 3000 rpm. La fase orgánica se transfirió a un tercer tubo (TUBO 3), el cual fue

previamente pesado, la capa inferior de éste se extrajo nuevamente con 3 ml de hexano (se mezcló por inversión 5 min., y se centrifugó a 3000 rpm 5 min.) y nuevamente la fase orgánica se transfirió al TUBO 3, las fases orgánicas colectadas en el TUBO 3 se evaporaron con flujo de nitrógeno a 50°C hasta llegar a peso constante y se determinó por gravimetría el contenido de lípidos presentes en la muestra.

2. Extracción de los analitos de los lípidos.

Los lípidos obtenidos en el TUBO 3 se disolvieron con 4 ml de hexano y 0.5 ml de DMSO, se mezcló por inversión durante 10 min. y se centrifugó a 3000 rpm por 5 min. El DDE- MeSO₂ se disuelve con el DMSO, por lo tanto dicho compuesto se quedó en la fase acuosa. La fase orgánica que contiene al DDT, DDE y DDD, se transfirió a un cuarto tubo (TUBO 4). La fase orgánica se extrajo nuevamente del TUBO 3 con 3 ml de hexano y se colocó en el TUBO 4.

Las fases orgánicas colectadas en el TUBO 4, se hidrolizaron con 1 ml de H₂SO₄ conc., se mezcló por inversión 5 min. y se centrifugó a 3000 rpm durante 5 min. La fase orgánica se transfirió a un quinto tubo (TUBO 5). Se reextrajo la capa inferior del TUBO 4 con 2 ml de hexano se transfirió la fase orgánica al TUBO 5, la muestra se concentró a 0.5 ml con corriente suave de nitrógeno a 37°C para posteriormente realizar la limpieza.

El DDE- MeSO₂ se extrajo de la fase acuosa del TUBO 3 con 0.5 ml de H₂O y 3 ml de hexano, se mezcló por inversión 5 min. y centrifugó a 3000 rpm durante 5 min. La fase orgánica se colocó en un TUBO 6. Se reextrajo la fase inferior del TUBO 3 con 3 ml de hexano, se mezcló y se centrifugó. Una vez que se tuvieron las dos fases orgánicas en el TUBO 6, se concentraron a 0.5 ml con flujo de nitrógeno a 37°C para posteriormente realizar el proceso de limpieza.

3. Limpieza de la muestra.

a) Activación de la sílica gel.

La sílica gel se activó en una estufa a 280°C durante 24h, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se transfirió a un frasco de vidrio ámbar, éste se colocó en un desecador para conservar la sílica activada. Ésta debe usarse por un periodo de no más de 7 días.

b) Preparación de las columnas.

Para el DDT, DDE y DDD se prepararon las columnas de la siguiente manera: en una pipeta Pasteur de punta larga se colocó un tapón de lana de vidrio silanizada, se agregó 0.1 g de sílica gel activada, 1 g de una mezcla recién preparada de SiO₂act:H₂SO₄ conc. (2:1) y 0.1 g de sulfato de sodio anhidro.

Para el DDE-MeSO₂ las columnas se prepararon en una pipeta Pasteur de punta larga para ello se le colocó un tapón de lana de vidrio silanizada, se agregó 0.1 g de

sílica gel activada, 0.2 g de una mezcla recién preparada de SiO_2 act:KOH 1M (2:1), 0.4 g de SiO_2 act: H_2SO_4 conc (2:1) y 0.1g de sulfato de sodio anhidro.

c) Limpieza del DDT, DDE Y DDD.

La columna de SiO_2 act: H_2SO_4 conc. fué acondicionada con 6 ml de una mezcla de DCM (dicloro metano) : hexano (1:1). Se adicionó el extracto obtenido del TUBO 5 y los analitos se eluyeron con 10 ml de una mezcla de DCM:hexano (1:1). Se realizó un cambio de solvente de DCM a hexano por medio de una corriente suave de nitrógeno a 37°C y la muestra se concentró a 1 ml, la cual se transfirió a un vial para su posterior análisis cromatográfico.

d) Limpieza del DDE- MeSO_2 .

La columna de SiO_2 act:KOH: H_2SO_4 conc. fué acondicionada con 6 ml de DCM. Se adicionó el extracto del TUBO 6 y el analito se eluyó con 10 ml de DCM. Se realizó un cambio de solvente de DCM a hexano por medio de una corriente suave de nitrógeno a 37°C y la muestra se concentró a 1 ml, la cual se transfirió a un vial para su posterior análisis cromatográfico.

Análisis Cromatográfico.

La cuantificación de los diferentes compuestos se realizó en un cromatógrafo de gases (Agilent 6890 Series GC System) con automuestreador, utilizando como detector un captura de electrones. Se utilizó una columna DB-608 (J&W Scientific) especial para plaguicidas clorados, de polaridad intermedia, con una longitud de

30 m, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25 μm de espesor de película de fase estacionaria, se utilizó helio como gas acarreador y nitrógeno como gas compensador (make up). La temperatura del inyector fue de 210 °C en el modo splitless manteniendo la válvula cerrada por un tiempo de 0.75 min. La temperatura de trabajo del detector fue de 300 °C. Para la determinación del DDT, DDE y DDD se trabajó con una temperatura inicial del horno de 150°C (1 min.) y una final de 285°C (rampa: 20°C/min hasta llegar a 285°C). Con respecto a la determinación del DDE-MeSO₂ se trabajó con una temperatura inicial del horno de 150°C (1 min), y una final de 270°C (rampa: 20°C/min, hasta llegar a 270°C, 10°C/min hasta llegar a 285°C). El volumen de inyección de la muestra fue de 1 μl .

Método analítico para cuantificar al DDT y sus metabolitos a partir de muestras de leche materna

Para la extracción del DDT y sus metabolitos de las muestras de leche se siguió el mismo procedimiento que el empleado en el método de plasma pero con algunas modificaciones. En el proceso de extracción de lípidos el HCl 6M fue reemplazado por ácido fórmico concentrado y la extracción líquido-líquido se realizó con una mezcla de éter:hexano (1:1).

Los procesos de extracción de los analitos de los lípidos, la limpieza de la muestra y el análisis cromatográfico siguió el mismo protocolo que el empleado con las muestras de plasma.

ANEXO II

Para confirmar y documentar la confiabilidad de los resultados obtenidos de los niveles de DDT y sus metabolitos en las diferentes matrices, se realizó la validación y estandarización del método instrumental y analítico.

1. Validación del Método Instrumental

1.1 SELECTIVIDAD

La selectividad de un método se refiere a la capacidad de éste para identificar a un analito en particular que se encuentra en una mezcla. Cuando un método es selectivo para un analito o un grupo de analitos se dice que es específico (Eurachem Guide, 1998).

Se trabajó con dos programas de temperaturas de análisis, uno para el DDT, DDE y DDD; y el segundo para el DDE-MeSO₂. Dado que estos dos grupos de compuestos tienen propiedades cromatográficas diferentes, se inyectaron estándares de concentración conocida de cada uno de los compuestos de manera individual y posteriormente en mezcla para determinar la capacidad del detector de identificar el mismo analito cuando se encuentra solo y/o en mezcla. Con este ensayo se obtuvieron los tiempos de retención de cada compuesto los cuales se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1. Tiempos de retención del DDT y sus metabolitos y los estándares internos empleados

	Tiempo de retención (min)
DDE	12.05
DDD	13.69
DDT	14.87
CB-189	19.91
DDE-MeSO₂	29.18
MeSO₂-IS	37.97

Para la determinación del DDT, DDE y DDD se trabajó con una temperatura inicial del horno de 150 °C (1 min.) y una final de 285 °C (rampa: 20 °C/min hasta llegar a 285 °C). Para la determinación del DDE-MeSO₂ se trabajó con una temperatura inicial del horno de 150°C (1 min), y una final de 270°C (rampa: 20°C/min, hasta llegar a 270°C, 10°C/min hasta llegar a 285°C).

Con los datos obtenidos se pudo confirmar que la respuesta a la medición es atribuida a cada metabolito, ya que presentaron los mismos tiempos de retención cuando se inyectaron de forma individual o en una mezcla de éstos (figura 4 y 5).

1.2 LINEALIDAD

Para el DDT, el DDE y el DDD se realizaron tres curvas de calibración en hexano por triplicado, durante tres días diferentes. Las concentraciones de los estándares fueron de 0.6, 2.7, 12.5, 55 y 250 ppb, con 101.7 ppb de CB-189 como estándar interno. Las condiciones cromatográficas fueron las mismas descritas en el Anexo I. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de: coeficiente correlación (r), pendiente (m) e intercepto al origen (b).

Tabla 2. Linealidad del método instrumental para el DDT, DDE Y DDD

Curva	DDT			DDE			DDD			
	r	m	b	r	m	b	r	m	b	
Día 1	1	0.9999	0.8320	0.0179	0.9999	1.1600	0.0302	0.9995	0.5960	0.0257
	2	0.9999	0.8860	0.0182	0.9999	1.2000	0.0185	0.9999	0.6200	0.0175
	3	0.9995	0.8580	0.0354	0.9999	1.1800	0.0194	0.9995	0.6020	0.0302
Día 2	4	0.9999	0.7990	0.0106	0.9999	1.1900	0.0181	0.9995	0.5670	0.0222
	5	0.9999	0.8140	0.0130	0.9999	1.1400	0.0136	0.9999	0.5610	0.0150
	6	0.9990	0.8080	0.0378	0.9999	1.1500	0.0201	0.9990	0.5480	0.0296
Día 3	7	0.9995	0.8030	0.0140	0.9999	1.1100	0.0129	0.9995	0.5400	0.0239
	8	0.9999	0.8120	0.0199	0.9999	1.1000	0.0143	0.9999	0.5470	0.0168
	9	0.9990	0.8100	0.0402	0.9999	1.1100	0.0141	0.9995	0.5460	0.0281
Media	0.9997	0.8250	0.0230	0.9999	1.1500	0.0179	0.9996	0.5670	0.0232	
DE	0.0004	0.0292	0.0115	0	0.0370	0.0053	0.0003	0.0291	0.0057	
% CV	0.03	3	50	0	3	30	0.03	5	25	

Con respecto al DDE-MeSO₂ se prepararon estándares en hexano de 0.6 ppb, 1.2 ppb, 2.6 ppb, 5 ppb y 10 ppb; con 1.4 ppb de MeSO₂-IS como estándar interno. Cada curva se hizo por triplicado, durante tres días diferentes. En la tabla 3 se muestran los resultados.

Tabla 3. Linealidad del método instrumental para el DDE-MeSO₂

	Curva	r	m	b
Día 1	1	0.9960	1.236	0.0038
	2	0.9985	0.812	0.0748
	3	0.9975	1.034	0.0365
Día 2	4	0.9960	1.120	-0.0299
	5	0.9985	1.160	-0.0175
	6	0.9975	0.913	-0.0287
Día 3	7	0.9980	1.116	-0.0208
	8	0.9985	1.098	-0.0466
	9	0.9980	1.103	-0.0269
	Media	0.9976	1.066	-0.0061
	DE	0.010	0.1297	0.0387
	% CV	0.1	12	629

De acuerdo a la EURACHEM (Europa Analytical Chemistry) para determinar la linealidad de un método analítico, el análisis debe realizarse por triplicado con 5 a 8 concentraciones diferentes del analito, preparados a partir de una misma solución patrón. Los criterios de linealidad son: el coeficiente de correlación ≥ 0.99 ; la pendiente es específica para cada compuesto pues la respuesta del detector es de acuerdo a la estructura química del analito; y el intercepto al origen lo más cercano a cero.

Las curvas de calibración para el DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ fueron lineales ya que todos los coeficientes de correlación fueron ≥ 0.99 , y los rangos del intercepto fueron para el DDT de 0.0150 a 0.0302, para el DDE de 0.0136 a 0.0302, para el DDD de 0.0150 a 0.0302 y para el DDE-MeSO₂ de -0.0466 a 0.0748.

1.3 *PRECISIÓN*

1.3.1 PRECISIÓN DEL INSTRUMENTO

La EURACHEM indica que, para la precisión del equipo, el análisis debe realizarse por sextuplicado de una misma solución de referencia, con un criterio de aceptación de $CV \leq 1.5\%$. Este parámetro nos indica la precisión que tiene tanto el automuestreador al inyectar un mismo estándar o muestra, como el detector de captura de electrones para identificar al analito en cuestión. Se empleó una solución estándar de 2.6 ppb de DDE-MeSO₂. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4. Precisión del instrumento

Inyección	Área
1	0.582
2	0.585
3	0.582
4	0.583
5	0.583
6	0.582
Media	0.583
DE	0.001
% CV	0.020

Observando los datos, indican que la inyección automática del equipo tuvo una baja dispersión de las lecturas de un mismo estándar, por lo que es preciso ya que el porcentaje del coeficiente de variación fue menor al establecido que es de 1.5%

1.3.2 REPETIBILIDAD

El criterio para la repetibilidad de un método analítico es que el % CV de la respuesta de cada estándar en el instrumento debe tener una variación entre el 16 y el 23% (Howirtz, 1981).

Para cada uno de los compuestos, se analizó la repetibilidad observando la variabilidad de la respuesta de cada uno de éstos. El análisis se realizó por triplicado en tres días diferentes. Los resultados se presentan en las tablas 5, 6, 7 y 8.

Tabla 5. Repetibilidad del método instrumental para el DDT

Estándar (ppb)	Área					
	Día 1		Día 2		Día 3	
	Media	% CV	Media	% CV	Media	% CV
0.6	0.011	3.670	0.010	5.330	0.010	3.331
2.7	0.034	8.812	0.032	5.781	0.033	7.466
12.5	0.129	3.230	0.116	4.679	0.120	5.095
55	0.495	3.536	0.454	1.337	0.467	2.278
250	2.133	3.171	2.004	1.350	2.010	1.288

Tabla 6. Repetibilidad del método instrumental para el DDE

Estándar (ppb)	Área					
	Día 1		Día 2		Día 3	
	Media	% CV	Media	% CV	Media	% CV
0.6	0.019	19.488	0.014	10.914	0.013	3.999
2.7	0.0507	3.899	0.045	5.358	0.042	7.528
12.5	0.174	2.592	0.162	3.537	0.154	2.211
55	0.670	1.099	0.657	3.063	0.616	0.896
250	2.918	1.472	2.864	1.957	0.732	0.732

Tabla 7. Repetibilidad del método instrumental para el DDD

Estándar (ppb)	Área					
	Día 1		Día 2		Día 3	
	Media	% CV	Media	% CV	Media	% CV
0.6	0.010	18.417	0.009	13.524	0.009	14.610
2.7	0.030	4.907	0.027	8.604	0.028	9.797
12.5	0.110	3.285	0.099	1.915	0.101	3.812
55	0.258	2.603	0.242	2.657	0.234	1.900
250	1.508	1.919	1.390	1.478	1.356	0.826

Tabla 8. Repetibilidad del método instrumental del DDE-MeSO₂

Estándar (ppb)	Área					
	Día 1		Día 2		Día 3	
	Media	% CV	Media	% CV	Media	% CV
0.6	0.242	5.815	0.257	3.122	0.294	1.363
1.2	0.635	10.976	0.567	3.725	0.582	0.852
2.6	1.321	11.550	1.302	3.513	1.475	0.961
5	2.147	6.276	2.260	2.414	2.813	0.308
10	5.082	10.023	4.920	0.674	6.513	0.280

De acuerdo a los porcentajes del coeficiente de variación obtenidos, se concluye que el método instrumental fue reproducible ya que este parámetro estuvo dentro del intervalo de aceptación (16 a 23%).

1.3.3 REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del método, se realizó con el análisis de las pendientes. El coeficiente de variación de ésta debe ser entre el 16 y el 23% (Horwitz, 1981). Los resultados de reproducibilidad para cada uno de los compuestos se muestran en las siguientes tablas (9, 10, 11 y 12):

Tabla 9. Reproducibilidad del método instrumental para el DDT

	Curva	Pendiente (m)	Media mismo día
Día 1	1	0.832	Media = 0.859 % CV = 3.145
	2	0.886	
	3	0.858	
Día 2	4	0.799	Media = 0.807 %CV = 0.935
	5	0.814	
	6	0.808	
Día 3	7	0.803	Media = 0.808 %CV = 0.585
	8	0.812	
	9	0.810	
Media diferentes días		0.825	
% CV		3.541	

Tabla 10. Reproducibilidad del método instrumental para el DDE

	Curva	Pendiente (m)	Media mismo día
Día 1	1	1.160	Media = 1.180 %CV = 1.695
	2	1.200	
	3	1.180	
Día 2	4	1.190	Media = 1.160 %CV = 2.281
	5	1.140	
	6	1.150	
Día 3	7	1.110	Media = 1.107 %CV = 0.522
	8	1.100	
	9	1.110	
Media diferentes días		1.145	
% CV		3.211	

Tabla 11. Reproducibilidad del método instrumental para el DDD

	Curva	Pendiente (m)	Media mismo día
Día 1	1	0.596	Media = 0.606 %CV = 2.061
	2	0.620	
	3	0.602	
Día 2	4	0.567	Media = 0.559 %CV = 1.738
	5	0.561	
	6	0.548	
Día 3	7	0.540	Media = 0.544 %CV = 0.695
	8	0.547	
	9	0.546	
Media diferente días		0.570	
% CV		5.110	

Tabla 12. Reproducibilidad del método instrumental para el DDE-MeSO₂

	Curva	Pendiente (m)	Media mismo día
Día 1	1	0.685	Media = 0.657 %CV = 4.575
	2	0.632	
	3	0.635	
Día 2	4	0.687	Media = 0.682 %CV = 0.610
	5	0.681	
	6	0.679	
Día 3	7	0.8060	Media = 0.802 %CV = 0.504
	8	0.798	
	9	0.803	
Media diferentes días		0.712	
% CV		9.965	

Con los resultados obtenidos para cada uno de los compuestos, se concluye que el método instrumental fue reproducible ya que el porcentaje del coeficiente de variación estuvo dentro del intervalo de aceptación (16-23%).

1.4 PRUEBA DE VERIFICACIÓN.

Se prepararon estándares en solvente de concentración baja, media y alta de cada uno de los compuestos, empleando un diseño a “simple ciego”, las concentraciones fueron diferentes a los puntos con que se construyó la curva de calibración. El objetivo de esta prueba fue verificar que la Ley de Lambert y Beer se cumpliera, es decir, asegurar que la respuesta fuera proporcional a la concentración de cada compuesto dentro del intervalo lineal. El criterio de aceptación para esta prueba fue

que el porcentaje de coeficiente de variación de cada concentración debía estar entre el 16 y el 23 % (Horwitz, 1981).

Las concentraciones de los estándares fueron de 1.5, 50 y 200 ppb para el DDT, DDE y DDD, obteniendo los siguientes resultados:

Tabla 13. Prueba de verificación del método instrumental para el DDT, DDE y DDD

	1.5 ppb		50 ppb		200 ppb	
	Media	%CV	Media	%CV	Media	%CV
DDT	1.448	1.2	52.587	1.0	205.702	6.4
DDE	1.439	1.1	48.778	1.9	187.084	4.8
DDD	1.450	2.0	49.301	0.7	203.239	4.0

Para el DDE-MeSO₂ se utilizaron las siguientes concentraciones: 0.8, 3 y 7 ppb. Los resultados se muestran en la tabla 14.

Tabla 14. Prueba de verificación del método instrumental para el DDE-MeSO₂

	0.8 ppb		3 ppb		7 ppb	
	Media	%CV	Media	%CV	Media	%CV
	0.869	1.7	3.511	5.2	7.094	3.4

Al observar los datos obtenidos se concluye que la prueba de verificación fue superada ya que los porcentajes del coeficiente de variación fueron menores al 23%.

1.5 LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

- a) Límite de detección (LD): mínima concentración de los analitos que puede ser detectada por el instrumento, pero no necesariamente cuantificada (Eurachem Guide, 1998).
- b) Límite de cuantificación (LC): la menor concentración de los analitos en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptable bajo las condiciones de operación establecidas (Eurachem Guide, 1998).

Para estos parámetros se realizaron tres curvas en hexano por triplicado durante tres días diferentes con los siguientes concentraciones: 0.15, 0.30, 0.60, 0.90 y 5 ppb para el DDT, el DDE y el DDD. De igual manera se realizó para el DDE-MeSO₂ pero con las siguientes concentraciones: 0.31, 0.41, 0.6 y 2.5 ppb. Los cálculos se realizaron por el método geométrico descrito por Miller (Miller y Miller, 2000). Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 15. Límite de detección y cuantificación del método instrumental

	LD (ppb)	LC (ppb)
DDT	0.019	0.065
DDE	0.028	0.094
DDD	0.031	0.104
DDE-MeSO ₂	0.042	0.069

2. Validación del Método Analítico

Cuando se trabaja con muestras biológicas es común tener interferencias en el análisis del compuesto de interés, debido a la presencia de los diferentes componentes de la matriz. Este efecto se contrarrestó con el empleo de las columnas de sílica gel.

Para validar el método analítico (de extracción) se obtuvieron muestras de plasma y leche materna de mujeres no expuestas al DDT y se analizaron bajo el mismo esquema descrito en el Anexo I. Se determinaron los siguientes parámetros analíticos: linealidad, repetibilidad, reproducibilidad, porcentaje de recobro, límite de detección y límite de cuantificación para cada matriz biológica (plasma y leche materna). Para que un método sea aceptado o se considere validado debe cumplir con los criterios establecidos por la EURACHEM (Eurachem Guide, 1998), y la FDA (Food and Drug Administration, 1981) (Horwitz, 1981).

2.1 *Linealidad.*

Para el DDT, el DDE, el DDD y el DDE-MeSO₂ se realizaron tres curvas de calibración por triplicado en plasma y tres más en leche materna. El rango lineal fue de 0.6 ppb a 250 ppb, empleando 101.7 ppb de CB-189 como estándar interno. Con respecto al DDE-MeSO₂ el rango lineal fue de 0.6 ppb a 10 ppb empleando 1.4 ppb de MeSO₂-IS como estándar interno. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de: coeficiente correlación (r), pendiente (m) e intercepto al origen (b) de las diferentes matrices biológicas.

Tabla 16. Linealidad del método analítico para el DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂
en plasma y leche materna

Compuesto/Curva	Plasma			Leche Materna			
	r	m	b	r	m	b	
DDT	1	0.9986	0.6847	-0.0933	0.9995	0.6520	0.0221
	2	0.9980	0.5174	-0.0029	0.9999	0.6890	0.0362
	3	0.9970	0.6500	-0.0246	0.9970	0.7060	0.0157
	Media	0.9979	0.6174	-0.0403	0.9988	0.6823	0.0247
DE	0.0008	0.0883	0.0472	0.0016	0.0277	0.0105	
% CV	0.01	14	117	0.15	4	42	
DDE	1	0.9988	1.0967	-0.0087	0.9944	0.9040	0.0359
	2	0.9996	0.8954	0.0063	0.9999	0.9600	0.0462
	3	0.9991	0.9959	0.0029	0.9995	0.9580	0.0102
	Media	0.9992	0.9960	0.0002	0.9980	0.9407	0.0308
DE	0.0004	0.1006	0.0008	0.0031	0.0318	0.0185	
% CV	0.04	10	472	0.31	4	60	
DDD	1	0.9972	0.4152	-0.0016	0.9985	0.4700	0.0110
	2	0.9999	0.4426	-0.0053	0.9990	0.4210	0.0540
	3	0.9911	0.4293	-0.0070	0.9995	0.4580	0.0198
	Media	0.9961	0.4290	-0.0046	0.9990	0.4500	0.0283
DE	0.0045	0.0137	0.0028	0.0005	0.0255	0.0227	
% CV	0.45	3	60	0.05	6	80	
DDE-MeSO₂	1	0.9990	0.6850	-0.0325	0.9975	0.6870	0.0666
	2	0.9986	0.6320	-0.0077	0.9999	0.6810	0.0115
	3	0.9997	0.6350	-0.0256	0.9955	0.6790	0.0577
	Media	0.9991	0.6507	-0.0219	0.9976	0.6823	0.0453
DE	0.0005	0.0298	0.0128	0.0022	0.0042	0.0295	
%CV	0.05	5	58	0.22	0.6	65	

De acuerdo a la EURACHEM los criterios de linealidad son: el coeficiente de correlación ≥ 0.99 ; la pendiente es específica para cada compuesto y el intercepto al origen lo más cercano a cero.

Las curvas de calibración para el DDT, el DDE, el DDD y el DDE-MeSO₂ en plasma y leche materna fueron lineales ya que todos los coeficientes de correlación fueron ≥ 0.99 , y los interceptos no fueron estadísticamente diferentes a cero.

En las figuras 1, 2, 3 y 4 se muestra el efecto de matriz de cada uno de los compuestos. Se comprobó que los diferentes componentes de las matrices tuvieron interferencias en el proceso de análisis de los DDTs. No se presentaron diferencias entre las curvas de calibración de plasma y en leche materna.

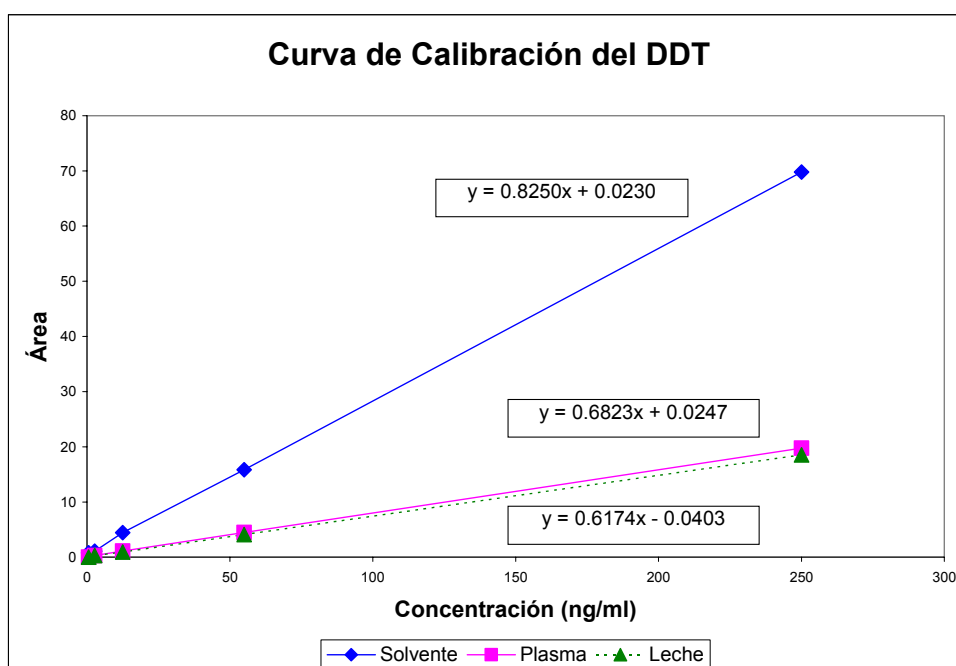


Figura 1. Efecto de matriz del método analítico para el DDT

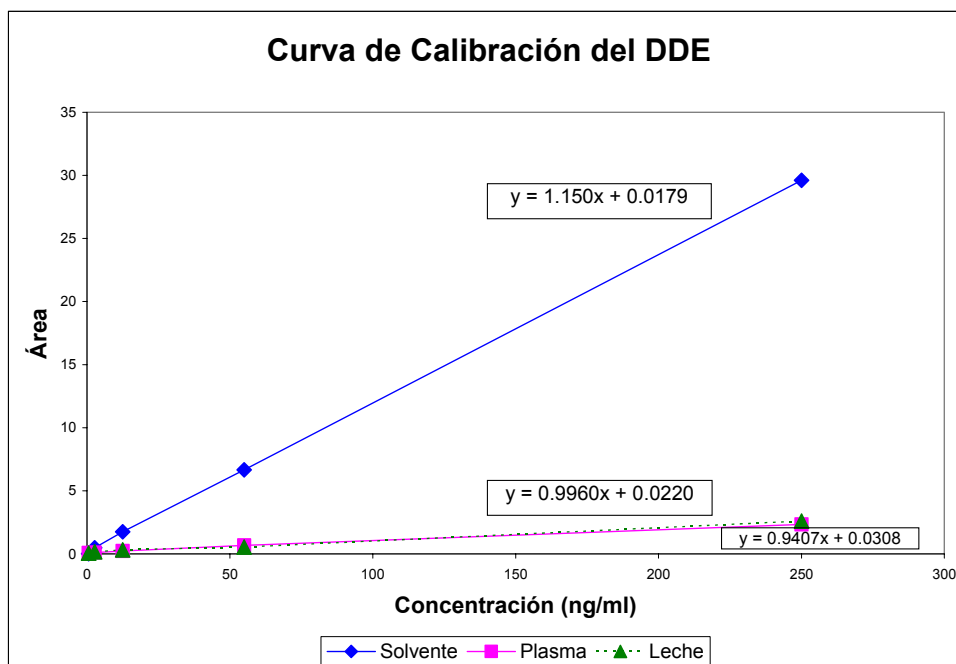


Figura 2. Efecto de matriz del método analítico para el DDE

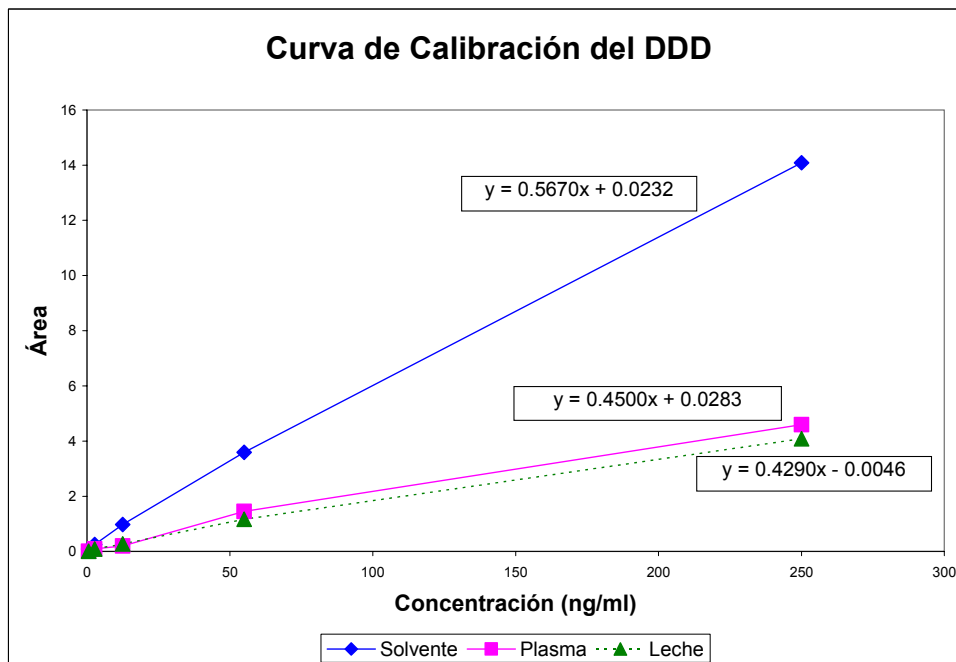


Figura 3. Efecto de matriz del método analítico para el DDD

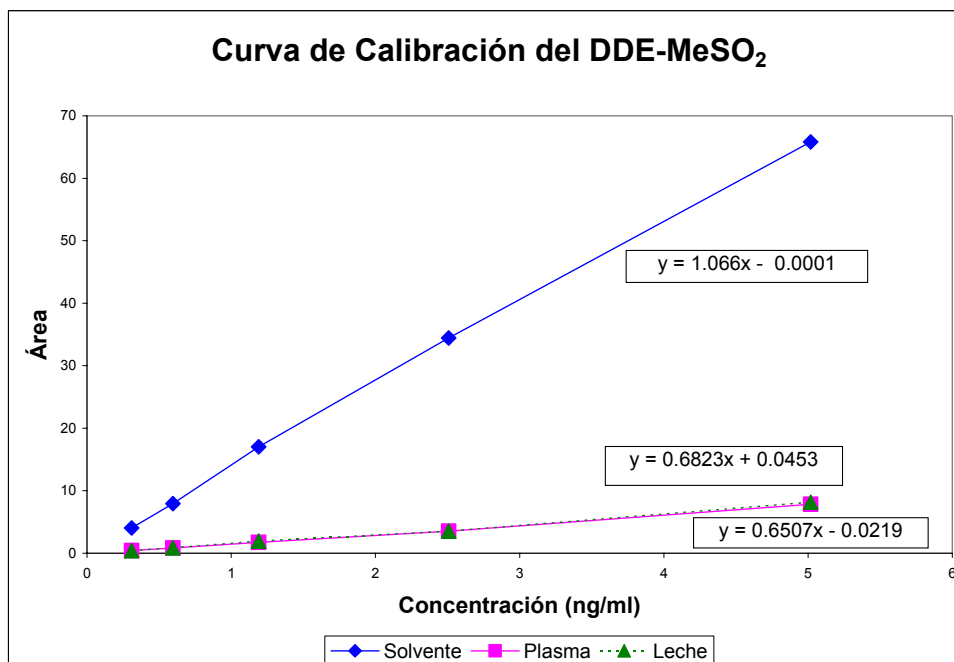


Figura 4. Efecto de matriz del método analítico para el DDE-MeSO₂

2.2 Precisión

2.2.1. REPETIBILIDAD

Para cada uno de los compuestos se analizó la repetibilidad, determinando la variabilidad de cada uno de los estándares adicionados por triplicado en concentraciones conocidas en las diferentes matrices biológicas. Las concentraciones de los estándares para el DDT, DDE y DDD fueron de 0.6, 2.7, 12.5, 55 y 250 ppb, con 101.7 ppb de CB-189 como estándar interno. Con respecto al DDE-MeSO₂ se prepararon estándares de 0.6, 1.2, 2.5, 5 y 10 ppb con 1.4 ppb de MeSO₂-IS como estándar interno. Los resultados que se muestran en las tablas 17 y 18, son el porcentaje de coeficiente de variación del área de cada estándar analizado por triplicado.

Tabla 17. Repetibilidad del método analítico para el DDT, DDE y DDD
en plasma y leche materna

Estándar (ppb)	DDT (%CV área)		DDE (%CV área)		DDD (%CV área)	
	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche
	0.6	13.98	13.46	13.31	11.26	6.27
2.7	7.61	2.85	6.63	21.11	9.86	4.57
12.5	6.80	4.84	4.46	24.05	18.57	17.64
55	3.12	11.65	9.96	11.39	11.62	11.16
250	3.14	4.97	9.07	5.43	2.04	20.05

Tabla 18. Repetibilidad del método analítico para el DDE-MeSO₂
en plasma y leche materna

Estándar (ppb)	% CV área	
	Plasma	Leche
0.6	7.52	5.21
1.2	5.09	1.99
2.5	3.89	15.62
5	3.34	9.94
10	2.27	3.48

El criterio para que un método analítico sea repetible es que el porcentaje de coeficiente de variación del área no sea mayor al 23% (Howirtz, 1981). Por lo tanto

el método analítico en las matrices biológica fue repetible para los 4 analitos, ya que los %CV fueron menores al 23%.

2.2.2. REPRODUCIBILIDAD

El método analítico para plasma y leche materna fue reproducible ya que el coeficiente de variación de cada una de las pendientes (m) fue menor al 23%, valor establecido por Horwitz en 1981. Se realizaron 3 curvas de calibración en cada matriz, la concentración de cada uno de los estándares se describió en el apartado anterior y fueron tratadas como se detalla en el Anexo I.

Tabla 19. Reproducibilidad del método analítico para el DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ en plasma y leche materna

Curva	DDT (m)		DDE (m)		DDD (m)		DDE-MeSO ₂ (m)	
	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche
1	0.68	0.65	1.10	0.90	0.41	0.47	1.23	1.12
2	0.52	0.69	0.90	0.96	0.44	0.42	0.81	1.16
3	0.65	0.70	0.99	0.96	0.43	0.46	1.03	0.91
Media	0.61	0.68	1.00	0.94	0.43	0.45	1.02	1.06
% CV	17.06	4.04	10.11	0.29	3.14	17.06	20.63	12.45

2.3 *Porcentaje de Recobro*

Se fortificaron por triplicado muestras blanco de plasma y leche materna, adicionando estándares en hexano de concentración baja (1.5 ppb), media (50 ppb) y alta (200 ppb) de una mezcla de DDT, DDE y DDD, empleando 101.7 ppb de CB-189

como estándar interno; se agitaron en vortex por un minuto, se mezclaron por inversión durante 2h, y se dejaron reposar 24h. El análisis de las mismas se realizó de acuerdo a la metodología descrita en el Anexo I. Para el DDE-MeSO₂ las concentraciones fueron de 0.8 ppb, 3 ppb y 7 ppb, empleando 1.4 ppb de MeSO₂-IS como estándar interno. El método de extracción es aceptado si el porcentaje de recobro está entre el 80% y 120% establecido por Howirtz y col., 1981. Los resultados que se muestran en la tabla 20 son la media de los triplicados.

Tabla 20. Porcentaje de recobro del método analítico para el DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ en plasma y leche materna

Estándar	DDT		DDE		DDD		DDE-MeSO ₂	
	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche
Bajo	95.6	94.9	93.7	94.1	94.0	95.1	97.1	98.4
Medio	92.8	90.5	95.6	98.1	98.6	98.4	97.3	97.1
Alto	96.9	99.6	92.1	92.6	96.6	100.4	95	96.6

Concentración baja = 1.5 ppb, media = 50 ppb y alta = 200 ppb, para el DDT, DDE y DDD. Concentración baja = 0.8 ppb, media = 3 ppb y alta = 7 ppb para el DDE-MeSO₂.

2.4 Límite de detección y cuantificación

Para estos parámetros se realizó una curva de calibración para el DDT, DDE y DDD en plasma y otra en leche materna. Las concentraciones empleadas fueron: 0.15, 0.30, 0.60, 0.90 y 5 ppb para la mezcla de DDT, DDE y DDD, empleando 2 ppb de CB-189 como estándar interno. Para el DDE-MeSO₂ la curva se preparó con las

siguientes concentraciones: 0.31, 0.41, 0.6 y 2.5 ppb, empleando 1 ppb de MeSO₂-IS como estándar interno. Los cálculos se realizaron utilizando el método geométrico de Miller y Miller. Los resultados obtenidos son los siguientes:

Tabla 21. Límite de detección y cuantificación en plasma y leche materna

	Límite de Detección (ppb)		Límite de Cuantificación (ppb)	
	Plasma	Leche	Plasma	Leche
DDT	0.024	0.025	0.081	0.079
DDE	0.035	0.034	0.171	0.169
DDD	0.040	0.045	0.180	0.189
DDE-MeSO₂	0.051	0.049	0.172	0.163

2.5 Control de Calidad

Al no contar con un estándar certificado en plasma y en leche materna para cada uno de los analitos, se prepararon estándares de concentración conocida, pero de diferentes concentraciones a los estándares con los que se construyeron las curvas de calibración y diferentes a los utilizados en el cálculo de porcentaje de recobro. A estos estándares se les nombró “estándares de control de calidad”. Para los compuestos DDT, DDE y DDE se fortificaron muestras blanco de plasma y de leche con estándares preparados en hexano de 100 ppb; y para el DDE-MeSO₂ de 7 ppb, empleando un diseño a “simple ciego”. Estos estándares controles se procesaron bajo el mismo esquema que las muestras (Anexo I). Por cada lote de 12 muestras

problema, se incluyó un estándar control. Los resultados de porcentaje de recobro para cada uno de los compuestos se muestran en la tabla 21.

Tabla 21. Porcentaje de recobro del DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ de los estándares de control de calidad en plasma y en leche materna

Punto Control	DDT		DDE		DDD		DDE-MeSO ₂	
	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche	Plasma	Leche
1	85	96	98	106	92	80	98	78
2	102	101	105	109	86	86	106	99
3	93	100	98	116	104	90	89	84
4	86	120	92	128	108	115	119	134
5	103	89	109	113	123	80	90	96
Media	93.8	101.2	100.4	114.4	102.6	90.2	100.4	98.2
+2 DE	17	23	13.2	17	28.8	29	25	43.4

Construcción de las gráficas de control de calidad: éstas se elaboran a partir de la media de la concentración ± 2 desviaciones estándar obtenidas del análisis por triplicado del punto control, el objetivo de las mismas es vigilar la variabilidad (precisión) a lo largo del análisis de las muestras problema. Las gráficas se muestran en las figuras de la 5 a la 12.

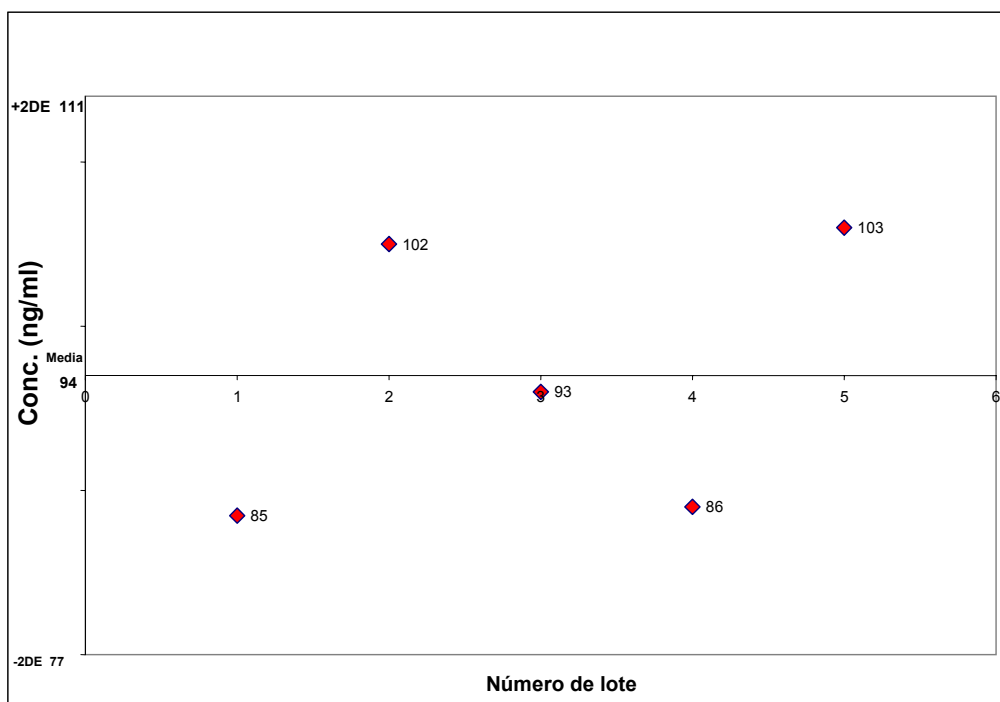


Figura 5. Gráfica de control de calidad para el DDT en plasma

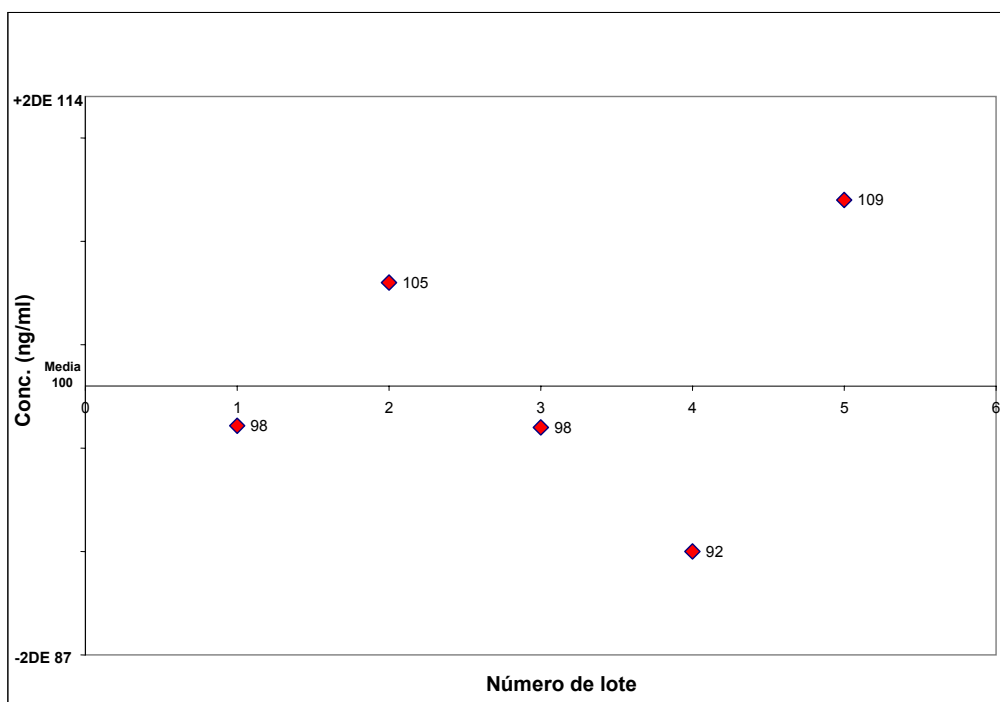


Figura 6. Gráfica de control de calidad para el DDE en plasma

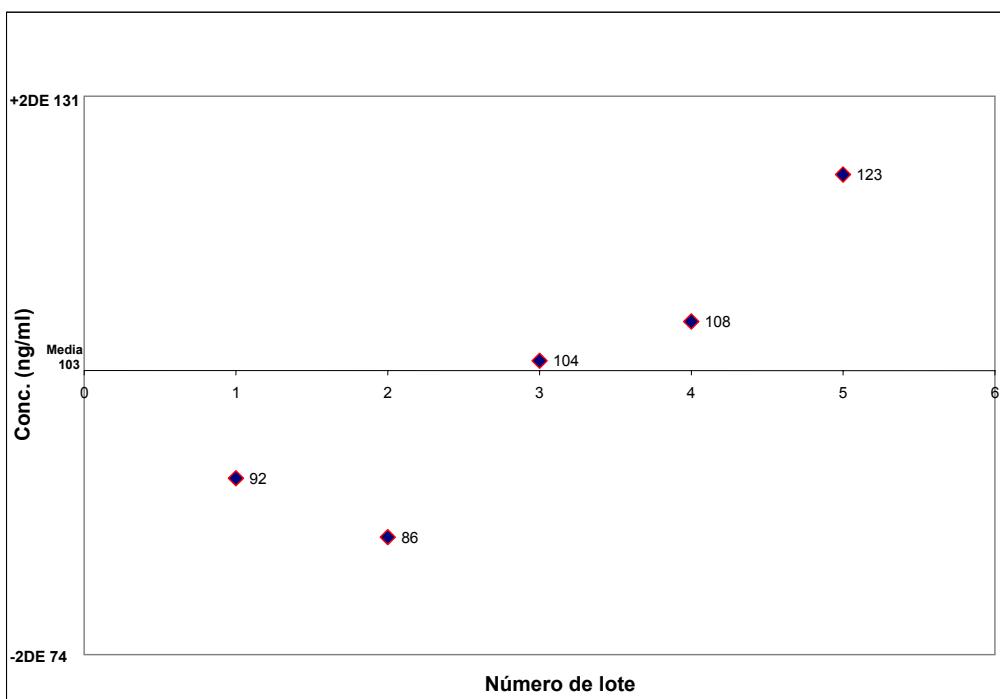


Figura 7. Gráfica de control de calidad para el DDD en plasma

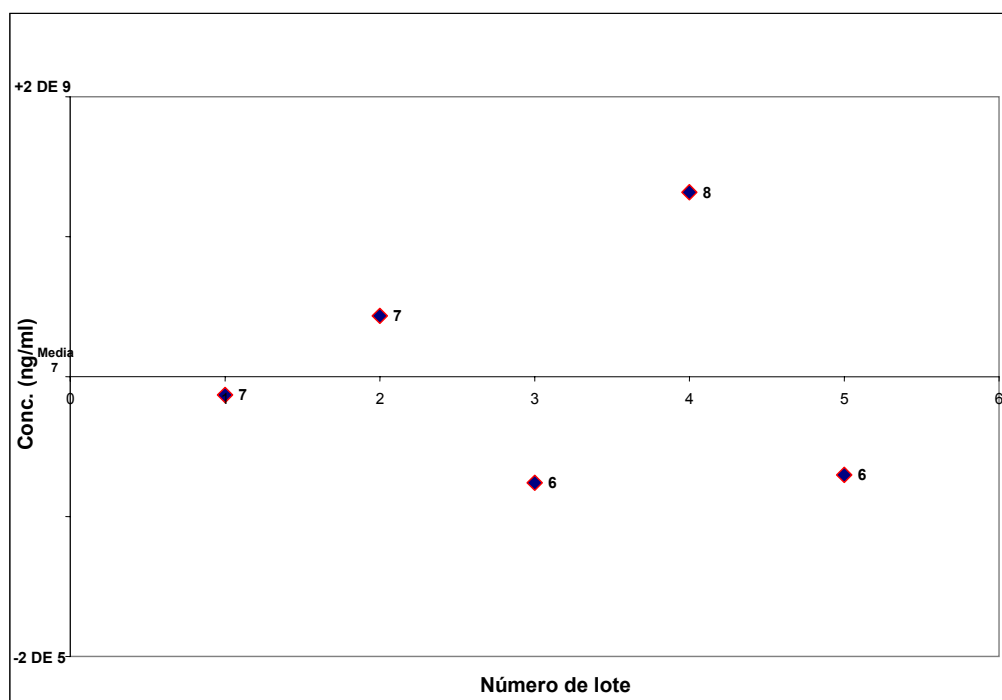


Figura 8. Gráfica de control de calidad para el DDE-MeSO₂ en plasma

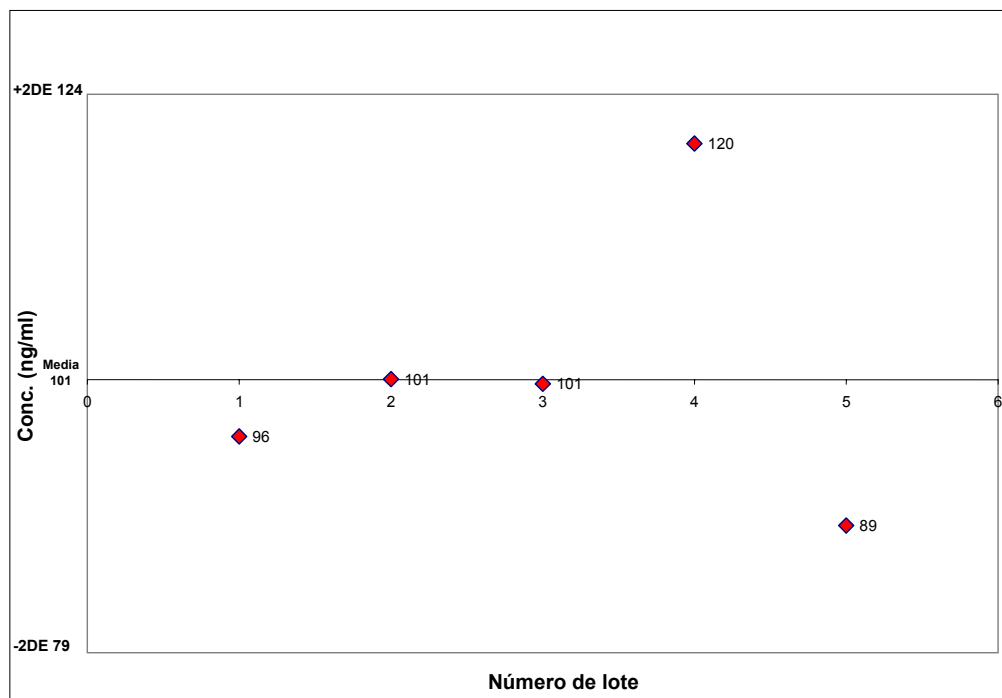


Figura 9. Gráfica de control de calidad para el DDT en leche materna

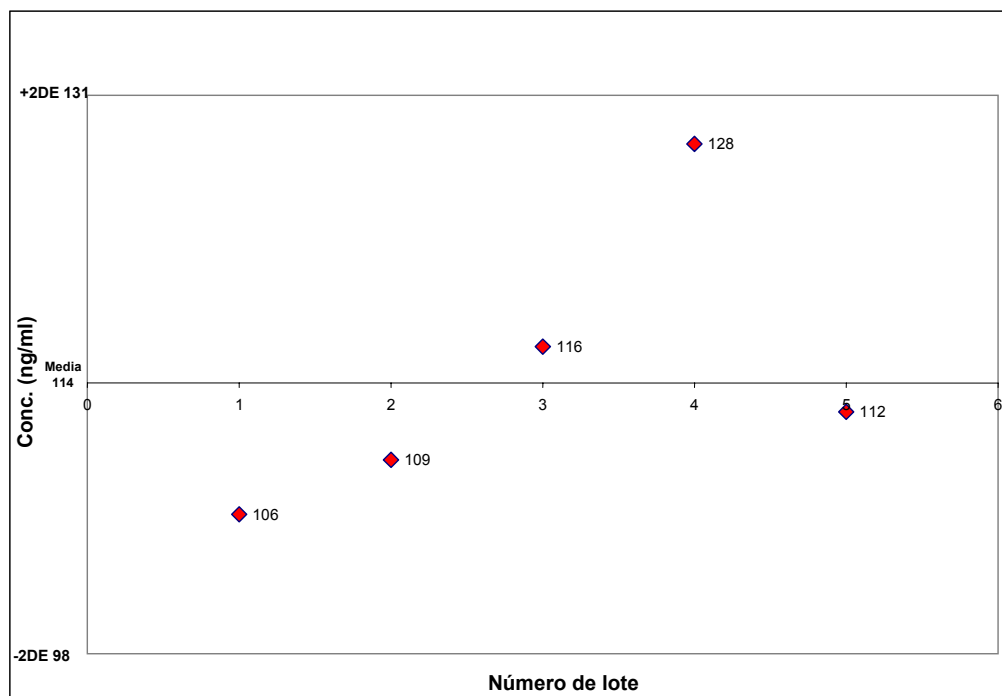


Figura 10. Gráfica de control de calidad para el DDE en leche materna

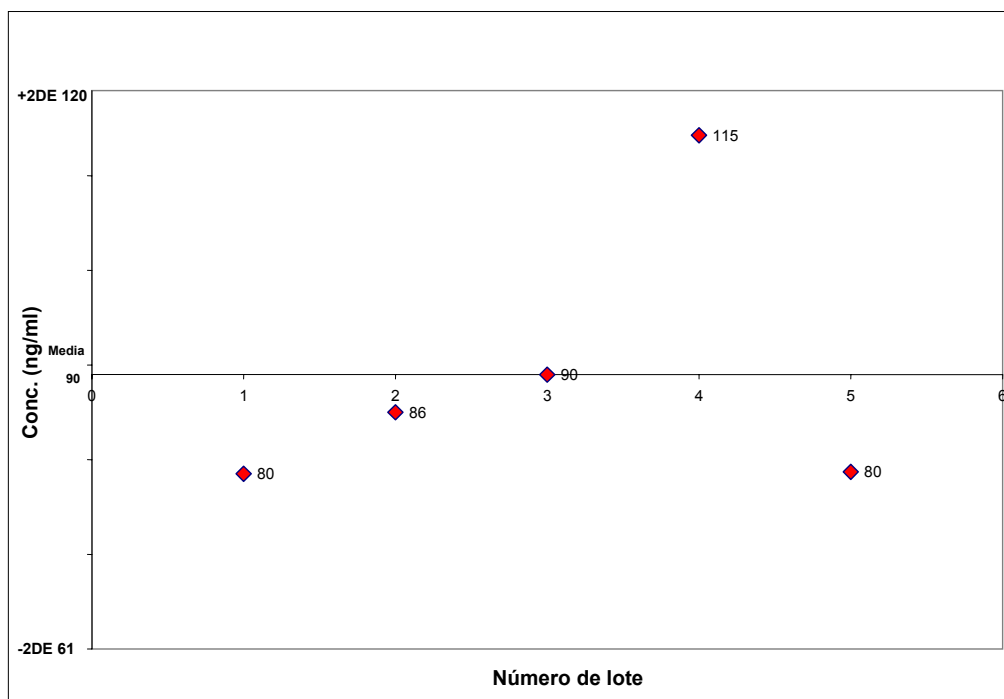


Figura 11. Gráfica de control de calidad para el DDD en leche materna

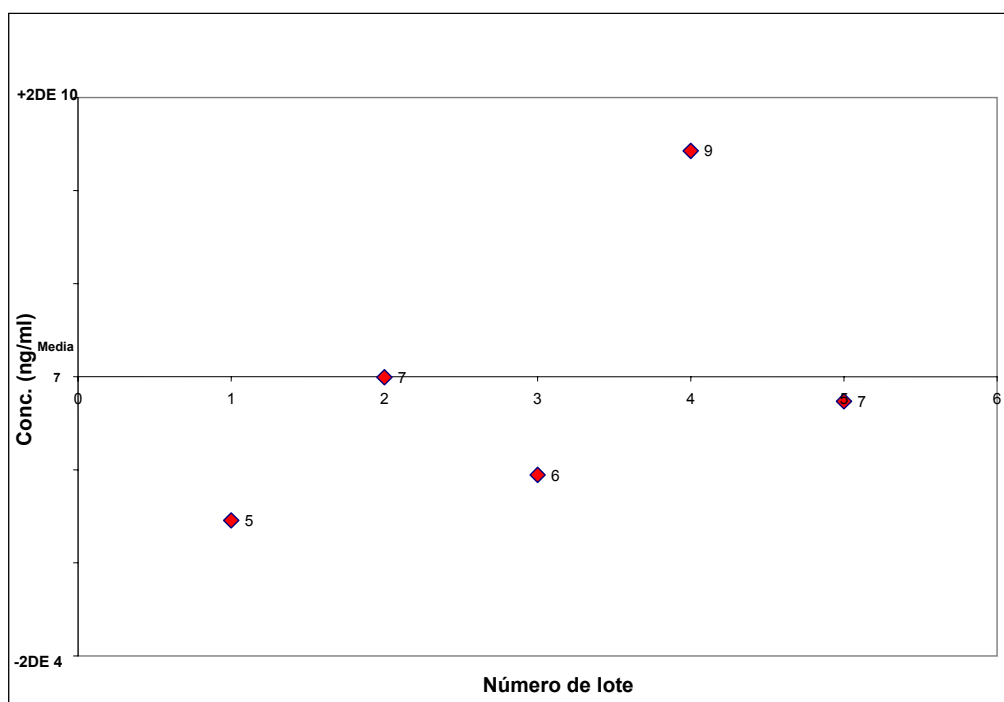


Figura 12. Gráfica de control de calidad para el DDE-MeSO₂ en leche materna

Por cada lote de 12 muestras problema se incluyó un “punto control”, de tal manera que si en una corrida el punto control no está dentro de especificaciones (± 2 DE), el lote de muestras que se procesó debe repetirse ya que el resultado no sería confiable. Es importante hacer mención que todos los puntos control estuvieron dentro de especificaciones como se muestra en las figuras de la 5 a la 12, por lo que las concentraciones que se cuantificaron de DDT, DDE, DDD y DDE-MeSO₂ en las diferentes muestras biológicas de las poblaciones estudiadas son confiables.

Se puede concluir que existió un efecto de matriz en el método analítico, tanto para plasma como para leche, pero éste se corrigió al construir curvas de calibración en cada una de las matrices y a partir de éstas se calculó la concentración de cada analito de las muestras problema.

ANEXO III

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE SAN LUIS POTOSI
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGIA AMBIENTAL**

DATOS GENERALES:

1. Nombre del entrevistador _____
2. Fecha de la entrevista _____ Fecha Nacimiento del Neonato _____
3. Nombre del paciente _____

Nombre Apellido paterno Apellido materno

4. Edad de la madre _____

5. Dirección

Calle Núm. Colonia

Ejido (puntos de referencia)

Municipio o Ciudad Estado Teléfono

6. Tiempo de Residencia _____

7. Si en la dirección anterior ha vivido por MENOS DE 5 AÑOS, por favor anote su dirección anterior y el tiempo de residencia en la misma:

Dirección _____
Calle Núm. Colonia

_____ Ejido (puntos de referencia)

_____ Municipio o Ciudad Estado

8. Tiempo de residencia _____

DATOS GINECOLÓGICOS:

9. Menarca _____

10. Ritmo _____

11. Número de embarazos _____

12. Número de partos _____ eutócicos _____

cesárea _____

13. Número de abortos _____

14. El embarazo ha sido: único _____

múltiple _____

15. ¿Ha empleado anticonceptivos?

Sí _____ ¿cuáles? _____

No _____

16. Antecedentes de malformaciones congénitas _____

17. Antecedentes de óbitos fetales _____

DATOS DEL RECIÉN NACIDO:

18. Fecha de Nacimiento _____

19. Edad _____

20. Peso _____

21. Talla _____

22. Perímetro cefálico (PC) _____

23. Perímetro torácico (PT) _____

24. Perímetro abdominal (PA) _____

25. Pie _____

26. ¿Hubo complicaciones durante el parto? _____

27. ¿El neonato nació sano? _____

28. ¿Tuvo alguna complicación el bebé durante su estancia en el Hospital?

ANTECEDENTES CLÍNICOS:

29. Tuberculosis _____

30. Diabetes _____

31. Hipertensión _____

32. Presenta desnutrición (en que grado) _____

33. Presenta parasitosis en la fecha en que se colectó la muestra (en caso afirmativo,
describa de que tipo) _____

34. ¿Cuándo se le tomó la muestra tenía gripe? _____

35. Otras patologías _____

36. ¿Está tomando algún medicamento? (ejem. Antibióticos o medicina tradicional)

(incluir solo los tres últimos meses)

No _____

Sí _____

¿Cuál? _____

¿Cuándo empezó? _____

¿Cuánto tiempo durará el tratamiento? _____

HABITOS ALIMENTICIOS:

26. ¿Consume pescado, cangrejos, ostiones, atún?

_____	_____	_____	_____
No	Si	Frecuencia/día/semana	Especie

37. ¿Consume carne de aves? _____

No	Si	Frecuencia/día/semana	Especie
----	----	-----------------------	---------

28. Ocupación del esposo _____

29. ¿Cuánto tiempo tienen en esta actividad? _____

30. Ocupación de la madre _____

31. ¿Cuánto tiempo tienen en esta actividad? _____

32. Fuma

el esposo si _____ ¿cuántos cigarrillos al día? _____

no _____

la esposa si _____ ¿cuántos cigarrillos al día? _____

no _____

33. Antecedentes de alcoholismo

el esposo si _____ no _____

la esposa si _____ no _____

34. LA ENTREVISTADA ¿ha estado en contacto con plaguicidas? (venenos):

no _____

si _____ ¿cuáles? _____

¿cuándo fue la última vez? _____

¿los aplica en el campo? _____

¿los aplica en su casa? _____

35. Su casa fue fumigada con DDT, para control del paludismo? (personal de la Secretaria de Salud se presenta con una mochila en la espalda que contiene la suspensión, la cual es rociada sobre las paredes de la vivienda, por dentro y por fuera [principalmente cocina y recámaras]).

No _____ Sí _____

Si su respuesta a la pregunta anterior es afirmativa:

36. ¿Con qué frecuencia fumigaron? _____

37. ¿Cuándo fue la última vez que fumigaron? _____

38. ¿Usted o algún miembro de la familia permaneció dentro de la vivienda mientras fumigaban?

Sí _____ ¿quién? _____

No _____ ¿cuánto tiempo después de que fumigaron entro ud. a la casa? _____

39. ¿Estaba usted embarazada cuando fumigaron su casa?

No _____

Sí _____ ¿cuántos meses de gestación tenía? _____

40. Cuando se han empleado plaguicidas para el paludismo, el dengue o usted en su casa, ¿algún miembro de la familia o usted han presentado uno o más de los siguientes síntomas?

- diarrea _____
- cefalea _____
- nauseas _____
- vómito _____
- mareo _____
- visión borrosa _____
- dolor estomacal (en la boca del estómago) _____
- astenia y/o adinamia (pérdida de fuerza en brazos y piernas) _____
- nerviosismo _____
- sialorrea (salivación) _____
- diaforesis (sudoración profusa) _____
- disnea (dificultad para respirar) _____
- pérdida de apetito (anorexia) _____

ANEXO IV

Acta Toxicológica Argentina

Publicación de la Asociación Toxicológica Argentina
Buenos Aires - Argentina



Asociación Toxicológica Argentina

Volumen 14
Suplemento
Agosto 2006

Acta Toxicológica Argentina es el órgano de difusión científica de la Asociación Toxicológica Argentina. Tiene por objetivo básico la publicación de trabajos originales, comunicaciones breves, actualizaciones o revisiones, temas de divulgación, comentarios bibliográficos, notas técnicas y cartas al editor. Asimismo, se publicarán noticias relacionadas con los diferentes campos de la Toxicología.



Asociación Toxicológica Argentina

Asociación civil (Personería Jurídica N° 331/90)
Adherida a la IUTOX

Acta Toxicológica Argentina

Asociación Toxicológica Argentina

Comisión Directiva

Presidente

Edda C. Villaamil Lepori

Vicepresidente

Susana I. García

Secretario

Gerardo D. Castro

Tesorera

Sandra O. Demichelis

Vocales

Gabriela Fiorenza
Cristina Rubio
Mirta Ryczel

Vocales Suplentes

Ricardo Aristu
Liliana Bulacio
María del Carmen Villarruel

Organo de Ficalización

Titulares

María del Carmen Magariños
Adriana Ridolfi

Suplente

Daniel González

Comité Científico

Marta A. Carballo
José A. Castro
Osvaldo H. Curci
Ricardo Duffard
Aldo S. Saracco

Tribunal de Honor

Carlos García
Estela Giménez
María Rosa Llorens

Acta Toxicológica Argentina

Director

Ricardo Duffard *LATOEX, FBIOyF-UNR*

Comité de Redacción

Ofelia C. Acosta de Pérez *Fac. Ciencias Vet.-UNNE, CONICET*
Valentina Olmos *FFyB - UBA*
Noemí R. Verrengia Guerrero *FCEyN - UBA*

Comité Editorial 2004

José A. Castro *CEITOX-CITEFA / CONICET - Argentina*
Antonio Colombi *Universidad de Milán - Italia*
Franz Delbeke *Universidad de Gante - Belgica*
Heraldo Donnewald *Poder Judicial de la Nación - Argentina*
Ana S. Fulginiti *Universidad de Córdoba - Argentina*
Nilda G. G. de Fernicola *CETESB - Brasil*
Veniero E. Gambaro *Universidad de Milán - Italia*
Carlos A. García *Instituto de Estudios Bioquímicos - Argentina*
Estela Gimenez *ANMAT - Argentina*
Hector Godoy *INTA / CIC - Pcia. de Bs. As. - Argentina*
Amalia Laborde *Universidad de la República - Uruguay*
Nelly Mañay *Universidad de la República - Uruguay*
Carlos Reale *Univ. Nacional del Sur - Argentina*
Felix G. Reyes *Universidad de Campinas - Brasil*
Irma Rosas Pérez *Univ. Autónoma de México - México*
Marta Salseduc *Lab. Bagó. Univ. Austral - Argentina*
Roberto Tapia Zuñiga *Chile*
Enrique Tourón *Argentina*
Norma Vallejo *Universidad de Bs. As. - Argentina*
Eduardo Zerba *CIPEIN - CITEFA / CONICET - Argentina*

INDICE

(CONTENTS)

WORKSHOP ON ADVANCES IN THE USE OF BIOMARKERS IN CHILDREN	1
ESTUDIO SOBRE CONTAMINACIÓN AMBIENTAL POR PLOMO EN NIÑOS DE LA LOCALIDAD DE ABRA PAMPA (JUJUY-ARGENTINA)	2
VISIÓN GENERAL DE LA EVALUACIÓN DEL RIESGO EN SALUD INFANTIL EMPLEANDO UN ENFOQUE POR ETAPAS DE DESARROLLO	7
BIOMARCADORES DE EFECTOS NEUROCONDUCTUALES	11
CONTAMINACIÓN DEL AIRE EN LA PLATA Y ALREDEDORES: FACTORES DE RIESGO Y PATOLOGÍAS RESPIRATORIAS EN NIÑOS	13
USO DE LOS DATOS DE BIOMONITOREO PARA INFORMAR SOBRE LA EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN INFANTIL	17
EXPOSICIÓN DE NIÑOS Y ADOLESCENTES A RESIDUOS PELIGROSOS EN BRASIL. UN ESTUDIO DE CASO	20
CONCENTRACIONES DE MERCURIO TOTAL EN SANGRE Y CABELLO POR INGESTA DE PESCADO EN NIÑOS, MUJERES EMBARAZADAS Y EN EDAD REPRODUCTIVA RESIDENTES DE LOS MUNICIPIOS ALEDAÑOS AL LAGO DE CHAPALA, JALISCO-MÉXICO	22
EXPOSICIÓN A PLOMO EN NIÑOS CANADIENSES: LA NECESIDAD DE REVISAR LOS ESTÁNDARES REGULATORIOS. NIVELES DE PLOMO Y ESTÁNDARES EN NIÑOS CANADIENSES	25
GENOTOXICIDAD EN NIÑOS QUE VIVEN EN UNA ZONA METALÚRGICA DEL ESTADO DE SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO	27
POLIMORFISMOS DE PARAOXONASA (PON1). UN EJEMPLO DE BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD A PLAGUICIDAS	29
EVALUACIÓN CLÍNICA Y BIOMARCADORES DE GENOTOXICIDAD EN UNA POBLACIÓN DE NIÑOS Y ADULTOS EXPUESTOS A MÚLTIPLES PLAGUICIDAS	31
DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE DDT, DDE Y DDE-MESO ₂ EN LECHE MATERNA Y SANGRE DE POBLACIONES CONTAMINADAS POR DDT EN MÉXICO	34
RIESGO INFANTIL POR EXPOSICIÓN A CARCINÓGENOS EN UN ÁREA DE ALTO TRÁNSITO VEHICULAR	37
BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN FETAL A MÚLTIPLES SUSTANCIAS QUÍMICAS EN CORDÓN UMBILICAL HUMANO	44
DAÑO AL ADN ASOCIADO AL CONTENIDO DE ARSÉNICO URINARIO EN UNA POBLACIÓN DE JÓVENES EXPUESTA AL ARSÉNICO POR EL AGUA DE BEBIDA	48
ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE LOS NIVELES DE EXPOSICIÓN A PBDES EN SANGRE Y LECHE MATERNA EN MÉXICO	52

RESIDUOS DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS EN LECHEs INFANTILES Y PRODUCTOS LÁCTEOS Y SU EVALUACIÓN DEL RIESGO	55
CENTROS DE INVESTIGACIÓN DE SALUD MEDIOAMBIENTAL Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES DE NIÑOS. DESDE 1998 AL PRESENTE	60
INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSICIÓN A PESTICIDAS Y SU RELACIÓN CON LA SALUD DE LOS NIÑOS	63
BIOMARCADORES DE EFECTO Y SU USO EN LA IDENTIFICACIÓN DEL PELIGRO: FUNCIÓN PULMONAR/ASMA	66
BIOMARCADORES PARA EL MONITOREO DE LA EXPOSICIÓN INTRAUTERINA A PLAGUICIDAS EN COMUNIDADES RURALES	69
BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN A TABACO AMBIENTAL EN ARGENTINA	73
AUTORES - AUTHORS	75

Los resúmenes de los artículos publicados en Acta Toxicológica Argentina se pueden consultar en la base de datos LILACS, en la dirección literatura científica del sitio www.bireme.br
Acta Toxicológica Argentina está indexada en el Chemical Abstracts. La abreviatura establecida por dicha publicación para esta revista es *Acta Toxicol. Argent.*
Calificada como Publicación Científica Nivel 1 por el Centro Argentino de Información Científica y Tecnológica (CAICYT), en el marco del Proyecto Latindex

Acta Toxicológica Argentina (ISSN 0327-9286), órgano oficial de la Asociación Toxicológica Argentina (ATA)
Se publica bianualmente. Registro de la Propiedad Intelectual N° 404.297

Aisina 1441 Of. 302 (1088) Buenos Aires - Argentina. Tel/Fax: 54-11 4381-6919

DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE DDT, DDE Y DDE-MESO₂ EN LECHE MATERNA Y SANGRE DE POBLACIONES CONTAMINADAS POR DDT EN MÉXICO

López Guzmán, Dania¹; Yáñez Estrada, Leticia¹, Athanasiadou, Maria²; Bergman, Åke²; Herrera Crispin³, y Díaz-Barriga, Fernando¹

1. Laboratorio de Toxicología Ambiental, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, México.
2. Departamento de Química Ambiental, Universidad de Estocolmo, Suecia.
3. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Chiapas, México

Dirección Postal: Dania López, Laboratorio de Toxicología Ambiental, Avenida Venustiano Carranza No. 2405, Col. Lomas los Filtros, CP 78210. San Luis Potosí, SLP, México. Teléfono y Fax: (444) 826-2354. e-mail: loguz_1999@yahoo.com

RESUMEN. Dania López Guzmán, Leticia Yáñez Estrada, María Athanasiadou, Åke Bergman, Crispin Herrera, y Fernando Díaz-Barriga. **DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE DDT, DDE Y DDE-MeSO₂ EN LECHE MATERNA Y SANGRE DE POBLACIONES CONTAMINADAS POR DDT EN MÉXICO.** *Acta Toxicol. Argent. (2006) 14 (Suplemento): 34-36.* Se determinaron los niveles de DDE-MeSO₂, DDT y DDE en 51 muestras de leche materna y en 40 muestras de sangre venosa de mujeres que viven en zonas donde el DDT se aplicó para el control de la malaria. Las concentraciones de los tres compuestos en leche materna en las diferentes comunidades fueron: El Ramonal 2.8 ng/glipido, 911 ng/glipido, 3100 ng/glipido; La Cigüeña 1.2 ng/glipido, 134 ng/glipido, 764 ng/glipido; Tapachula 0.5 ng/glipido, 17 ng/glipido, 683 ng/glipido; la Huasteca 1.4 ng/glipido, 46 ng/glipido, 490 ng/glipido; y Faja de Oro 0.4 ng/glipido, 18 ng/glipido, 268 ng/glipido. Las concentraciones encontradas de DDE-MeSO₂ en El Ramonal son siete veces mayores a las reportadas en Suecia en 1992 (0.4 ng/glipido). Los niveles de exposición a los 3 compuestos en sangre venosa fueron: Lacanjá 64 ng/glipido, 1323 ng/glipido, 3738 ng/glipido; El Ramonal 20 ng/glipido, 748 ng/glipido, 1271 ng/glipido; La Cigüeña 66 ng/glipido, 424 ng/glipido, 1059 ng/glipido; y Ventanilla 43 ng/glipido, 335 ng/glipido, 1362 ng/glipido; de DDE-MeSO₂, DDT y DDE respectivamente. Las comunidades de Lacanjá y La Cigüeña presentaron los mayores niveles de exposición al DDE-MeSO₂, que comparados con los reportes de Eslovaquia son nueve veces mayor (7.3 ng/glipido).

ABSTRACT. Dania López Guzmán, Leticia Yáñez Estrada, María Athanasiadou, Åke Bergman, Crispin Herrera, y Fernando Díaz-Barriga. **DDT, DDE AND DDE-MeSO₂ LEVELS IN MATERNAL MILK AND BLOOD SERUM FROM DDT EXPOSED POPULATIONS IN MEXICO.** *Acta Toxicol. Argent. (2006) 14 (Suplemento): 34-36.* The levels of the DDE-MeSO₂, DDT and DDE were determined in 51 breast milk samples and in 40 blood samples from women living in endemic areas of malaria. The concentrations of the three compounds in maternal milk were: El Ramonal 2.8 ng/glipid, 911 ng/glipid, 3100 ng/glipid; La Cigüeña 1.2 ng/glipid, 134 ng/glipid, 764 ng/glipid; Tapachula 0.5 ng/glipid, 17 ng/glipid, 683 ng/glipid; Huasteca 1.4 ng/glipid, 46 ng/glipid, 490 ng/glipid; and Faja de Oro 0.4 ng/glipid, 18 ng/glipid, 268 ng/glipid. The concentrations of DDE-MeSO₂ found in El Ramonal were seven times higher than those reported in Sweden in 1992 (0.4 ng/glipid). In blood the levels of the three compounds were: Lacanjá 64 ng/glipid, 1323 ng/glipid, 3738 ng/glipid; El Ramonal 20 ng/glipid, 748 ng/glipid, 1271 ng/glipid; La Cigüeña 66 ng/glipid, 424 ng/glipid, 1059 ng/glipid; and Ventanilla 43 ng/glipid, 335 ng/glipid, 1362 ng/glipid. The concentrations of DDE-MeSO₂ in Lacanjá and La Cigüeña were nine times than those reported in Slovakia (7.3 ng/glipid).

Palabras clave: DDE-MeSO₂, leche materna, sangre venosa.

Key words: DDE-MeSO₂, maternal milk, blood serum.

Palabras claves: DDE-MeSO₂, leite materno, soro de sangue.

INTRODUCCIÓN

El DDT (diclorodifeniltricloroetano) es un insecticida persistente que fue usado en todo el mundo en la agricultura y en programas de control de Malaria. A pesar de su lenta degradación en el ambiente, el DDT es biotransformado a metabolitos lipofílicos y también persistentes como el DDD, el DDE y el DDE metil sulfonado (DDE-MeSO₂) que son capaces de atravesar barrera placentaria y eliminarse a través de la leche materna (1,2). Dichos compuestos son encontrados en tejidos humanos, animales y en invertebrados (3). El DDE-MeSO₂ fue cuantificado por primera vez en grasa de focas del mar Báltico (4). Posteriormente se encontró en aves, ratones y osos polares (5, 6). Con respecto a muestras humanas, este metabolito se ha encontrado en leche materna (7), sangre (8), tejido adiposo y en hígado (9). Existen reportes de su habilidad para unirse irreversiblemente en la zona fascicular de la glándula adrenal de ratones y en biopsias de humanos (10).

Considerando que en México el DDT fue utilizado

hasta el año 2000, decidimos estudiar la concentración del DDT y sus metabolitos en leche humana y sangre de mujeres como reflejo de la exposición a este insecticida en zonas endémicas de Malaria. Es importante mencionar que este trabajo es el primer reporte sobre DDE-MeSO₂ en poblaciones altamente expuestas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población. Las muestras de leche materna se colectaron de 51 madres residentes de las comunidades de El Ramonal, La Cigüeña, Faja de Oro y Tapachula en el Estado de Chiapas y la Huasteca en el Estado de San Luis Potosí. Con respecto a las muestras de sangre venosa, 40 mujeres que viven en comunidades del Sureste de México (El Ramonal, Ventanilla, Lacanjá y La Cigüeña) fueron reclutadas para informarles sobre el estudio y obtener su participación voluntariamente. Las muestras de leche se colectaron en mujeres diferentes a las que donaron sangre. Todas las participantes tenían un nivel socioeconómico similar (indígenas mexicanas) y tenían viviendo en la

comunidad por lo menos los últimos cinco años previos al estudio.

Análisis. La metodología utilizada para el análisis fue modificada a la desarrollada por Hovander et al (11). En 5g de leche materna o de plasma, se desnaturalizaron las proteínas con isopropanol. Se realizó una extracción líquido-líquido para obtener los diferentes analitos (DDE-MeSO₂, DDT y DDE). Se determinaron los lípidos totales por gravimetría. Posteriormente se limpió la muestra con una columna de SiO₂/H₂SO₄ conc. (2:1) y se eluyó con diclorometano. Se realizó cambio de solvente a hexano y se evaporó la muestra a 1ml con una corriente de N₂ a 37°C. La muestra se analizó por cromatografía de gases con detector de captura de electrones.

Se fortificaron muestras blanco de leche y sangre con los diferentes analitos, y se determinaron los porcentajes de recobro, los cuales fueron: DDT 101% (+11%), DDE 114% (+8%), y para el DDE-MeSO₂ del 98% (+20%). Los límites de detección fueron: DDT de 0.019 µg/L, DDE de 0.028 µg/L, y del DDE-MeSO₂ de 0.042 µg/L.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestran las concentraciones obtenidas en leche materna. La comunidad de El Ramonal presentó los mayores niveles al DDT y

DDE (911 y 3100 ng/g lípidos, respectivamente) y la de menor exposición fue Faja de Oro (18 y 268 ng/g lípido, respectivamente). Como se esperaba, se encontró en el 100% de las muestras el DDE-MeSO₂, en concentraciones de 0.02 a 38 ng/g lípido. Los mayores niveles de dicho metabolito se encontraron en mujeres de El Ramonal (0.2-9.3 ng/g lípido).

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la ingesta diaria aceptable (ADI) de DDT y DDE en leche materna es de 20 µg/kg/día (12). Se calcularon los ADIs para cada comunidad, asumiendo que el infante pesa 5 kg e ingiere 0.8 L de leche materna. Los resultados del ADI fueron: El Ramonal 141 µg/kg/día, La Cigüeña 55 µg/kg/día, Tapachula 51 µg/kg/día, la Huasteca 40 µg/kg/día y Faja de Oro 19 µg/kg/día. (Tabla 1)

Con respecto al estudio realizado en sangre venosa de mujeres del Sureste Mexicano, los valores encontrados de DDT, DDE y DDE-MeSO₂ se muestran en la Tabla 2. La comunidad de Lacanjá presentó la mayor exposición al DDT y DDE (1323 ng/g lípido y 3738 ng/g lípido, respectivamente), mientras que la comunidad de Ventanilla obtuvo la menor concentración de DDT (335 ng/g lípido) y La Cigüeña de DDE (1059 ng/g lípido). Los valores encontrados de DDE-MeSO₂ en sangre venosa fueron de 11 a 191 ng/g lípido. Los mayores nive-

Compuesto	El Ramonal Mediana (Intervalo)	La Cigüeña Mediana (Intervalo)	Tapachula Mediana (Intervalo)	Huasteca Mediana (Intervalo)	Faja de Oro Mediana (Intervalo)
DDT	911 (323-2071)	134 (5-470)	17 (0.04-950)	46 (7-889)	18 (0.04-136)
DDE	3100 (1153-15875)	764 (120-3128)	683 (26-3003)	490 (101-2735)	268 (40-1372)
DDE-MeSO ₂	2.8 (0.2-9.3)	1.2 (0.5-4.2)	0.5 (0.07-38)	1.4 (0.3-3.2)	0.4 (0.02-7.8)

Tabla 1. Concentración de DDT, DDE y DDE-MeSO₂ en leche materna de mujeres que viven en comunidades endémicas de Malaria en México.

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. La edad de las mujeres de la comunidad de El Ramonal es de 23-29 (n=7), La Cigüeña de 17-34 (n=11), Tapachula de 17-35 (n=11), la Huasteca de 18-36 (n=10) y Faja de Oro de 16-36 años (n=12).

Compuesto	Lacanjá Mediana (Intervalo)	El Ramonal Mediana (Intervalo)	La Cigüeña Mediana (Intervalo)	Ventanilla Mediana (Intervalo)
DDT	1323 (551-7433)	748 (158-3222)	424 (322-851)	335 (145-1111)
DDE	3738 (1291-18080)	1271 (204-6636)	1059 (0.4-1795)	1362 (195-5351)
DDE-MeSO ₂	64 (13-158)	20 (11-48)	66 (19-191)	43 (12-139)

Tabla 2. Concentraciones de DDT, DDE y DDE-MeSO₂ en sangre venosa de mujeres que viven en el Sureste Mexicano.

Las concentraciones se reportan en ng/g lípido. La edad de las mujeres de la comunidad de Lacanjá es de 15-50 (n=9), El Ramonal de 20-48 (n=10), La Cigüeña de 17-38 (n=9), y Ventanilla de 17-33 años (n=12).

les de exposición a dicho compuesto se obtuvieron en las comunidades de Lacanjá y La Cigüeña (64 y 66 ng/g lípido, respectivamente) (Tabla 2)

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados de DDT y DDE en nuestro estudio de leche materna, muestran que los valores en la comunidad de El Ramonal (911 ng/g lípido y 3100 ng/g lípido, respectivamente) son similares a los reportados por Waliszewski et al en el año de 2002 en México (510 ng/g lípido y 3230 ng/g lípido, respectivamente) (13). Para el DDE-MeSO₂, la comunidad de mayor exposición fue El Ramonal (2.8 ng/g lípido), y las concentraciones en esta comunidad resultaron ser siete veces mayores a las reportadas en leche de mujeres Suecas en el año de 1992 (0.4 ng/g lípido) (7). El DDT y el DDE exceden el ADI recomendado por la OMS de 1.4 a 20 veces y particularmente en la comunidad de El Ramonal el 100% de los infantes están expuestos a dosis mayores que el ADI.

En el estudio realizado en sangre venosa, encontramos que nuestros resultados de DDT (335-1323 ng/g lípido) y DDE (1059-3738 ng/g lípido), son también similares a los reportados en el 2002 por Waliszewski et al. en nuestro país (1200 ng/g lípido y 1050 ng/g lípido, respectivamente) (13). En la comunidad de Lacanjá (64 ng/g lípido) y La Cigüeña (66 ng/g lípido) los valores encontrados de DDE-MeSO₂ son 9 veces mayores a los reportados en el 2004 por Hovander et al. (7.3 ng/g lípido) en personas que viven en Eslovaquia (8). Si continuamos comparando los niveles de dicho compuesto con reportes de biopsias humanas en hígado (1.15 ng/g lípido) y en tejido adiposo (4.69 ng/g lípido) (9), encontramos que en el presente estudio, los resultados son de 15 a 60 veces mayores. Además existen reportes donde se han observado daños adrenales en focas y osos polares a concentraciones sanguíneas de 0.7 a 100 ng/g lípido (6), los valores obtenidos en sangre venosa en nuestra población (11-158 ng/g lípido), representan entonces un riesgo en la salud.

CONCLUSIÓN

Con los resultados que obtuvimos demostramos que la población que vive en zonas endémicas de Malaria en México sigue expuesta al DDT y sus metabolitos, aun cuando dicho plaguicida se dejó de utilizar en el año 2000. Además, tomando en cuenta la toxicidad de dichos compuestos, es importante proponer un programa de reducción de riesgos en los infantes, ya que la leche materna es el primer alimento del recién nacido.

BIBLIOGRAFIA CITADA

1. Czaja K., Ludwicki K., Góralczyk K., Strucinski P. (1997). Effect of age and number of deliveries on mean concentration of organochlorine compounds in human breast milk in Poland. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 59, 407-413.
2. Haraguchi K., Kuroki H., Masuda Y. (1988). Occurrence and distribution of chlorinated aromatic methylsulfones in biological samples. Chemosphere 19, 487-492.
3. Turusov V., Rakitsky V., Tomatis L. (2002). Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT):ubiquity, persistence, and risks. Environ Health Perspect 119, 125-128.
4. Jensen S., Jansson B. (1976). Methyl sulfone metabolites of PCB and DDE. Ambio. 5, 257-260.
5. Jonsson C., Rodríguez H., Lund B., Bergman A., Brandt I. (1991). Adrenocortical Toxicity of 3-Methylsulfonyl-DDE in Mice. Fundamental and Applied Toxicology. 16, 365-374.
6. Letcher, R. (1996). The Ecological and Analytical Chemistry of Chlorinated Hydrocarbon Contaminants and Methyl Sulfonyl-Containing Metabolites of PCBs and 4,4-DDE in the polar Bear. PhD Thesis.
7. Noren K., Lunden A., Petterson E., Bergman A. (1996). Methylsulfonyl metabolites of PCBs and DDE in Human Milk in Sweden 1972-1992. Environ Health Persp. 104, 766-771.
8. Hovander L., Linderholm L., Athanassiadou M., Athanassiadis I., Trnovec T., Kocan A., Petrik J., Bergman A. (2004). Analysis of PCB and PCB metabolites in Humans from Eastern Slovakia. Organohalogen Compounds. (66), 3525-3551.
9. Chu S. Covace A., Jacobs W., Haraguchi K., Schepens P. (2003). Distribution of methyl sulfone metabolites of polychlorinated biphenyls and p,p'-DDE in human tissues. Environ. Health Persp. 111 (9), 1222-1227.
10. Lund B., Bergman A., Brand I. (1998). Metabolic activation and toxicity of a DDT metabolite, 3-methylsulphonyl-DDE, in the adrenal zona fasciculata in mice. Chem-Biol Interact. 65, 25-40.
11. Hovander, L., Athanassiadou, M., Asplund, L., Jensen, S. and Klasson Wehler, E. (2000). Extraction and cleanup methods for analysis of phenolic and neutral organohalogenes in plasma. J. Anal. Toxicol. 24, 696-703.
12. FAO/WHO (1985). Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues. Pesticide residues in food 1984: Teport Paper 62. FAO Plant Production and Protection.
13. Waliszewski S., Bermúdez M., Infanzón R. (2002). Niveles de DDT en Tejido Adiposo Materno, Suero Sanguíneo y Leche de Madres Residentes en Veracruz, México. Rev. Int. Contam. Ambient. 18 (1), 17-25.