

las. Jornadas Nacionales

HEXACLOROBENCENO

Barcelona, 23-24 de Mayo de 1988

Libro de Actas



las. Jornadas Nacionales

HEXACLOROBENCENO

Barcelona, 23-24 de Mayo de 1988

Libro de Actas

ACADÈMIA DE CIÈNCIES MÈDIQUES DE CATALUNYA I BALEARS

Sala A. Passeig de Bonanova, 47. 08017 Barcelona.

Telf. (93) 212 38 95

PPU

Barcelona, 1990

Publicaciones del Seminario Pere Mata de la Universidad de
Barcelona. Publicación número 41.

© Seminari Pere Mata
Unitat d'Ensenyament i Recerca de Medicina Legal
i Laboral i Toxicologia.
Departament de Salut Pública i Legislació Sanitària
Universitat de Barcelona

© PPU
Promociones y Publicaciones Univesitarias, S.A.
Marqués de Campo Sagrado, 16
08015 Barcelona

I.S.B.N.: 84-7665-668-8
D.L.: L-1276-90

Imprime: Poblagràfic, S.A.
Avda. Estació, s/n.
POBLA DE SEGUR (Lérida)

las. Jornadas Nacionales

HEXACLOROBENCENO

Barcelona, 23-24 de Mayo de 1988

Organizan: Universitat de Barcelona, Societat Catalana de Medicina Legal i Toxicologia. Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i Balears.

Comite organizador:

Presidente:	J. Corbella
Secretario:	M. Rodamilans
Vocales:	J.l. Elorrieta
	C. Conde
	J. Gómez Catalán
	J. To Figueras

**Acadèmia de Ciències Mèdiques de Catalunya i Balears.
Sala A. Passeig de Bonanova, 47. 08017 BARCELONA
telf. (93) 212 38 95**

INDICE

Páginas

- 15 - 26 **Introducción: Riesgo por HCB.**
J. Corbella.
Barcelona
- 27 - 42 **L'Hexachlorobenzène: Processus industriels**
générateurs et méthodes d'analyse dans le
milieu ambiant.
M. Mazza; D. Jullien.
Verneuil-en Halatte. Francia.
- 43 - 66 **Acumulación de HCB en tejidos humanos.**
J. To Figueras.
Barcelona
- 67 - 72 **Compuestos organoclorados en leche humana.**
C. Conde.
Madrid
- 73 - 75 **Emission of organochlorine compounds from an**
aluminium remelting plant.
L. Månsson; A. Seldén.
Enköping, Orebro, SUECIA.
- 77 - 92 **Distribución de HCB entre el material disuelto**
y particulado de las aguas del delta del Ebro.
J.L. Gómez-Belinchón; R. Llop; J. Grimalt; J.
Albaigés.
Barcelona

- 93 - 94 **Determinación de HCB en productos cárnicos mediante cromatografía de gases con columna capilar.**
J.A. García Regueiro; I. Díaz.
Girona
- 95 - 106 **Estudio de plaguicidas organoclorados en leche materna en Navarra.**
J.A. Pérez de Ciriza; A. Samanes; J.E. Olivera; C. García; R. Elcarte; C. Conde.
Pamplona
- 107 - 110 **Equipos de atención primaria y su relación con el medio ambiente: HCB en leche materna.**
M.A. Sienra; L. Jimenez de Andres; J. Oyauri; C. Beltrán; P. Alandete.
Arévalo, Avila
- 111 - 121 **Carcinogénesis inducida por HCB.**
J.R.P. Cabral
Lyon, Francia.
- 123 - 130 **Estudio de plaguicidas organoclorados en suero de aplicadores.**
J.A. Pérez de Ciriza; A. Samanes; E. Gil; P. Fraile; V. Garisoain; C. Martinez-Lizarrondo.
Pamplona
- 131 - 139 **Estudio de la presencia de HCB en tejido adiposo en la población de Zaragoza.**
A. Ferrer; M^a A. Bona; M. Castellano; M. Brunet; J. To-Figueras.
Zaragoza
- 141 - 147 **Contaminación por organoclorados en tejido adiposo humano.**
J.B. Martí Lloret; D. Prats; M^a R. Más.
Alicante

- 149 - 159 **Residuos de hexaclorobenceno en el tejido adiposo de la población de Cataluña (1986-87).**
J. Planas; J. Gómez; J. To-Figueras; M. Sabroso; M. Camps; J. Corbella.
Barcelona
- 161 - 174 **Hexaclorobenceno en la leche de madres españolas.**
C. Conde.
Madrid
- 175 - 175 **Porfirias: Alteraciones congénitas del metabolismo del hemo.**
M. Lecha; C. Herrero; J.M. Mascaró.
Barcelona
- 177 - 200 **Porfirias tóxicas. Porfirias experimentales.**
J.J. Muñoz; R. Enríquez de Salamanca.
Madrid
- 201 - 219 **Transporte de HCB en la sangre. I: Determinación del patrón de unión del HCB a los componentes celulares y macromoleculares.**
J. Gómez Catalán; J. To-Figueras; M. Rodamilans; J. Corbella.
Barcelona
- 221 - 228 **Transporte del HCB en la sangre. II: Efectos sobre la cinética de distribución.**
J. Gómez Catalán; J. To-Figueras.
Barcelona
- 229 - 242 **Epidemiología del HCB en España. Propuestas de actuación.**
J.L. Elorrieta.
Pamplona

INDICE DE AUTORES:**Páginas**

Alandete, P.	107
Albaigés, J.	77
Beltrán, C.	107
Bona, M ^a R.	131
Brunet, M.	131
Cabral, J.R.P.	111
Camps, M.	149
Castellano, M.	131
Conde, C.	95, 67, 131
Corbella, J.	15, 149, 201
Díaz, J.	93
Elcarte, R.	95
Elorrieta, J.L.	229
Enríquez de Salamanca, R.	177
Ferrer, A.	131
Fraile, P.	123
García, C.	95
García Regueiro, J.A.	93
Garisoain, V.	123
Gil, E.	123
Gómez-Belinchón, J.L.	77
Gómez Catalán, J.	149, 201, 221
Grimalt, J.	77
Herrero, C.	175
Jimenez de Andres, L.	107
Jullien, D.	27
Lecha, M.	175
Llop, R.	77
Martí Lloret, J.B.	141
Más, R.M.	141
Mascaró, J. M ^a	175
Martinez-Lizarrondo, C.	123
Mazza, M.	27
Mansson, L.	73
Muñoz, J.J.	177
Olivera, J.E.	95
Oyauri, J.	107
Pérez de Ciriza, J.A.	95, 123
Planas, J.	149
Prats, D.	141
Rodamilans, M.	201
Sabroso, M.	149

Samanes, A.	95, 123
Seldén, A.	73
Sienra, M.A.	107
To Figueras, J.	43, 131, 149, 201, 221.

INTRODUCCION

Hexaclorobenceno (HCB) es un hidrocarburo clorado que ha sido utilizado como fungicida y que además constituye una impureza de otros pesticidas y es subproducto de procesos industriales de producción de compuestos clorados. Al igual que los insecticidas organoclorados, HCB es resistente a la degradación en el medio ambiente y lipófilo, características que hacen que se acumule en el medio y sufra bioconcentración a lo largo de las cadenas tróficas. Por tanto se halla presente en los alimentos y en los tejidos del hombre.

HCB es una sustancia tóxica: se conoce su potencial carcinogénico y porfirinogénico en diferentes animales de experimentación, y ha sido causa de uno de los más importantes episodios de intoxicación alimentaria, con más de 3000 afectados con manifestaciones de porfiria (Turquía, años 50).

La presencia en el organismo humano del HCB y su potencial toxicidad justifican el interés en estudiar esta sustancia por sus posibles efectos sobre la Salud Pública. Una muestra de este interés fue la celebración del 1er Simposium Internacional sobre HCB en Lyon (1986) bajo los auspicios de O.M.S. y I.A.R.C. En aquel simposium, un grupo de investigadores de Barcelona presentó unos resultados que demostraban un muy elevado grado de impregnación por HCB de la población de esta ciudad. Posteriormente, trabajos de éste y otros grupos han demostrado una elevada incidencia de la contaminación por HCB en otras poblaciones españolas.

Reunir en un foro común a todos estos investigadores y grupos de nuestro país que estudian el HCB desde diferentes puntos

de vista ha sido el principal objetivo de las las Jornadas Nacionales de Hexaclorobenceno, celebradas en Barcelona los días 23 y 24 de Mayo de 1988. Participaron 46 científicos y se presentaron 20 comunicaciones que son recogidas en el presente volumen. Predominan los trabajos de tipo epidemiológico en que se estudia el grado de impregnación de diferentes poblaciones, pero también figuran estudios de toxicidad experimental, toxicocinética, contaminación del medio ambiente y de fuentes industriales del HCB. Es nuestro deseo que este libro contribuya no sólo a fomentar el interés de la comunidad científica en este tema y otros relacionados con el impacto de la contaminación sobre la salud, sino también a concienciar a las autoridades sanitarias de la importancia de estas cuestiones.

J. Corbella

RIESGO POR HEXACLOROBENCENO (HCB)

J. CORBELLA

U. E. R. de Medicina Legal, Laboral i Toxicologia. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona.

UN PROBLEMA DE SALUD PUBLICA

1. Los productos tóxicos han constituido siempre un riesgo para la humanidad. Pero hasta hace bastante menos de dos siglos sólo algunos productos naturales tenían un potencial tóxico. Esto significaba que el número de venenos era ciertamente bastante limitado. Sólo a partir del siglo XIX se inicia el desarrollo de la química orgánica y la síntesis de nuevos productos. Desde entonces el número de sustancias potencialmente peligrosas irá aumentando en progresión creciente.

De otro lado los productos naturales conocidos no suelen acumularse. Las circunstancias de su ingreso suelen ser muy precisas (envenenamiento intencionado, accidente...). Alguna vez existía acúmulo, y a veces una cierta habituación a las dosis repetidas. El caso más conocido es el del arsénico en el fenómeno conocido como mitridatismo. Excluimos de esta valoración las sustancias que crean hábito o dependencia y que se suelen englobar en el concepto de "drogas de adicción". Este es otro campo.

El desarrollo de la química permite en buena parte el proceso de industrialización. No solamente se sintetizan nuevas sustancias, que antes no existían en la naturaleza o

no eran conocidas, sino que la industria produce residuos que deben eliminarse. Estos residuos, pasan al medio (aire, agua, alimentos...) siquiera sea en cantidades mínimas. Al principio eran tan pequeñas que prácticamente no se detectaban.

Un nuevo aspecto del progreso ha sido la creciente sensibilidad en los análisis y hoy es posible detectar proporciones extraordinariamente pequeñas de cualquier producto en el medio. Con esto se ha pasado a un nuevo aspecto. El estudio de la presencia de sustancias en el medio no importa solamente por su tipo y cantidad sino también por su posible persistencia o acumulación. En este caso sus efectos son mayores y más peligrosos. Si este riesgo es importante constituyen un problema no sólo para el químico que debe analizarlos, el clínico que debe valorar sus efectos, el toxicólogo que debe tener una visión global, sino para la autoridad sanitaria que debe velar por la salud de la población. Se convierte pues en un problema, grave o no según el caso, de salud pública.

2. Ya hemos apuntado el concepto de persistencia del tóxico y su acumulación en cantidades cada vez menos reducidas. Algunas sustancias son muy solubles y se eliminan fácilmente. Otras se metabolizan y se destruyen o eliminan. Pero otras, las menos, tienden a acumularse, alcanzando niveles altos, que pueden significar ya un cierto riesgo para la salud. Impregnan lentamente los tejidos de los seres vivos. Cuando estas sustancias, a pesar de todo, no son particularmente peligrosas, o el margen de riesgo es muy amplio, el problema tiende a ser menos grave. Pero en otros casos el acúmulo es importante, los efectos de la sustancia no son despreciables, y una parte de la población puede sufrir sus efectos.

3. Aquí nos importa señalar cual es la población afectada. En el caso de intoxicaciones intencionadas suelen ser pocos; en el caso de accidentes pueden ser más, pero siempre cifras de población muy limitadas. En el caso del paso de sustancias al medio se afecta prácticamente a toda la población. En ella debemos contar desde los niños a los ancianos, desde las personas en perfecto estado de salud a quienes tienen graves enfermedades y un margen de esperanza vital -siquiera sea por edad, pero también por patología previa- muy reducido. Al riesgo de contaminación estamos expuestos todos, sanos y enfermos. Esto es importante a la

hora de valorar el grado de peligro de una sustancia determinada.

Así, teniendo en cuenta todos los conceptos expuestos, hemos llegado a una situación de una cierta sensibilización de la población. Actualmente muchos ya saben que el medio ambiente está contaminado. Que tanto el aire que respiramos, como el agua que bebemos o los alimentos que ingerimos no son puros sino que pueden contener sustancias que tienen efectos nocivos. Así ha sido necesario señalar en ciertos medios, sobre todo los de trabajo, las tasas máximas aceptables de muchas sustancias para considerar que no tienen efectos nocivos para la salud.

El problema ha pasado pues de los gabinetes técnicos a la opinión pública. Hoy no es solamente un problema técnico - que también lo es - sino político. Las autoridades sanitarias tienen ante sí un campo de actuación amplio, en el que deben adoptar medidas no siempre fáciles de tomar, ni de hacer cumplir. Pero hoy ya no se trata de un tema únicamente científico sino también de salud pública. No es necesario insistir más en este punto.

CUATRO CONDICIONES DE RIESGO

Situado el problema en su dimensión política debemos analizarlo en sus aspectos técnicos. De entrada se plantean dos grandes cuestiones:

1. ¿Cuáles son los productos que se acumulan, o por lo menos se acumulan más?. En principio los menos hidrosolubles, los más liposolubles; los de moléculas grandes que no se hidrolizan o lo hacen con dificultad. En este campo, en la situación de hoy, tenemos dos capítulos principales, el de los hidrocarburos clorados y el de algunos metales.

2. La segunda cuestión es conocer el grado real de riesgo de cada sustancia. Si se acumula y es poco peligrosa el problema sanitario es mínimo. Debemos pues valorar este riesgo de patología. En principio sabemos que muchas sustancias pueden lesionar muchos órganos, pero aquí las proporciones, e incluso la probabilidad, es un factor que debe tenerse muy en cuenta. Dentro de las alteraciones

patológicas hay dos capítulos que sensibilizan particularmente a los sanitarios y, todavía más, a la población general. Se trata sobre todo de las sustancias que pueden tener efectos cancerígenos o teratógenos. Bueno es decir que desde un punto de vista general el progreso extraordinario de la toxicología experimental ha contribuido a ensombrecer el campo. Gran número de sustancias, en alguna u otra especie, a dosis o vías casi siempre poco usuales, e incluso forzadas, pueden tener un efecto sobre todo oncogénico. Los hechos quizá sean un poco forzados, pero están ahí. Es evidente que para ciertas especies, y a partir de ciertas dosis, el riesgo carcinogénico existe.

Todo esto ha llevado a una situación concreta en la que hoy estamos. A menudo se reúnen, en una misma sustancia las cuatro condiciones que señalamos.

a) existencia de una patología experimental abundante, más peligrosa en el caso de que se evidencien lesiones de tipo tumoral o malformativo.

b) existencia de una patología humana conocida, aunque a veces no coincidan totalmente los datos obtenidos en el animal con la clínica humana. Pero hay evidencia de que producen algún tipo de daño en el hombre.

c) presencia más o menos habitual de estas sustancias en el medio (agua, aire, alimentos).

d) evidencia de que tienden a acumularse en el organismo (impregnación) en cantidades detectables y a menudo progresivas dependiendo de la ocupación, o incluso principalmente de la edad.

Numerosas sustancias reúnen estas cuatro condiciones: patología experimental; patología humana; presencia en el medio; acumulación. Ya hemos dicho que en principio los dos grupos más importantes son el de los hidrocarburos clorados y el de los metales.

Quizá el primero en ser estudiado con una cierta amplitud a escala mundial, ha sido el de los organoclorados. En parte porque se acumulan mucho (gran liposolubilidad), también debido a que se les utiliza muy extensamente; en parte porque no figuran entre los más difíciles de determinar. Por estas razones han sido muy estudiados, el

primero de ellos el DDT. Pronto el capítulo se ha ampliado.

En nuestro departamento hemos empezado a estudiar la presencia de hidrocarburos clorados, en el capítulo de los plaguicidas, en 1981. Las tasas de acúmulo humano eran muy altas, casi del orden de los 20 ppm. En alimentos -grasa de animales de consumo principalmente, pero también en vegetales- se observaron concentraciones detectables. Ya en esta primera serie se detectó la presencia, como segundo contaminante, del HCB. Esta es una sustancia, conocida desde hace años pero que tiene un interés cada vez mayor en toxicología ambiental. En buena parte por ser un cancerígeno bien conocido. Ya valoramos su presencia y riesgo en las Jornadas Mediterráneas de Medicina del Trabajo de 1983. En 1985 la IARC celebró una reunión específica sobre esta sustancia en Lyon, estudiando principalmente sus efectos carcinogénicos.

El HCB es un producto relativamente bien conocido. En los últimos años el número de trabajos sobre esta sustancia ha sido creciente. Aquí tendremos en cuenta, de manera relativamente breve, los cuatro aspectos enunciados: existencia de patología humana conocida; abundancia de datos experimentales que demuestran su poder patógeno; presencia en el medio; tendencia a acumularse en el hombre (impregnación).

PATOLOGIA HUMANA POR HEXACLOROBENCENO (HCB)

Se conoce relativamente bien desde hace unos treinta años a partir de un brote tóxico masivo y prolongado que afectó a la zona del Kurdistán turco, entre los años 1955 y 1959. El origen fue alimentario. El HCB se había utilizado como fungicida para conservar grano destinado a simiente. Este fue empleado para obtener harina y así durante años el pan contenía cantidades elevada de HCB. Parece ser que se afectaron unas 5000 personas. Las lesiones se manifestaron principalmente en la piel adoptando las formas típicas de las porfirias. Una gran parte de los afectados eran niños. Las primeras descripciones de Cam son de 1957. Vinculado a la escuela dermatológica francesa, trata este aspecto: "Une nouvelle dermatose épidémique des enfants" (1960). El mismo año publica un trabajo más intencionado: "Porphyries cutanées toxiques et acquises causées par l'hexachlorobenzène" en una

de las revistas entonces de mayor difusión entre los dermatólogos, los Annales de Dermatologie et Syphyliographie. El hecho tuvo inmediatamente una cierta difusión y al año siguiente Cam ya habla de la "epidemia turca de porfiria". Así quedó el nombre de Porphiria Turcica. No es preciso insistir en la clínica (ampollas, pigmentación, cicatrices...) pero sí en el hecho de la afección frecuente de jóvenes, señalada ya por Cam y recogida por Cabral. Era fundamental el efecto de fotosensibilización: mayor afección de las zonas expuestas a la luz solar; acné de la afección en meses de verano.

El segundo gran campo de acción patológica en el caso de la misma porfiria es la afectación hepática. También aquí existe una patología bien conocida: aumento de tamaño (hepatomegalia), alteraciones funcionales. La orina tiene asimismo un color característico, rojo-pardusco, que se había comparado al de ciertos vinos (porto). Otras alteraciones han tenido menor relevancia, a pesar de que pueden ser relativamente frecuentes: dolores musculares o articulares, parestesias, aumento de tamaño del tiroides. La mortalidad fue relativamente importante y a menudo quedaron secuelas, sobre todo cutáneas (cicatrices, hiperpigmentación, hipertrichosis), de la función hepática, neurológicas (parestesias, algias musculares), articulares (artritis) e incluso oftálmicas (opacidad corneal). Se trató pues de un brote muy importante desde un punto de vista sanitario: afectación de gran masa de población; gravedad de la clínica; mortalidad; secuelas persistentes; desconocimiento inicial del factor causante; curso muy prolongado del brote (años).

Todo ello referido al brote de origen alimentario. La patología por HCB de origen profesional es discutida y en todo caso poco frecuente. Hoy tiene un relieve menor. Se conocen algunos casos.

PATOLOGIA EXPERIMENTAL POR HCB

El capítulo es amplio, y ya desde el principio, debe señalarse que desde un punto de vista sanitario debe considerarse como un tóxico potencial de primer orden por cuanto tiene una clara capacidad de inducción de tumores malignos. La literatura es extensa y precisamente por esta actividad carcinogénica la IARC convocó la reunión de Lyon

de 1985. La extensa monografía que recoge las aportaciones de esta reunión es un claro exponente de este riesgo.

La mayor cantidad de trabajos se refieren a roedores que es el modelo más útil. Los resultados dependen en buena parte de las dosis y el tiempo que dura el experimento. La mortalidad es elevada -aunque no concuerdan todos los datos- a partir de los 50 mg./kg./día y administración de 1 mes. Junto a ello los síntomas neurológicos; alteraciones cutáneas; lesión hepática; retrasos ponderales, etc. Existe pues una rica patología "ordinaria".

Pero el campo más importante es el oncogenético. Cabral y cols. ya publicaron en Nature en 1977 un trabajo sobre la actividad carcinogénica del HCB en hamster. Esta patología tumoral afecta principalmente al hígado (hepatocarcinomas; hermangioendoteliomas), y en segundo lugar al tiroides. Como dice en el resumen se ha demostrado su riesgo oncogenético en ratones, ratas y hamsters y "el conjunto de resultados proporciona suficientes evidencias como para recomendar grandes precauciones en la utilización de este producto".

Señalado el riesgo tumoral, el más importante hoy, consideramos suficiente la atención en este capítulo. Sólo nos queda insistir en un pequeño punto, el de la dosis: ya es peligroso en tasas de 50 ppm, en la alimentación diaria. O sea a partir de los 4-6 mg./kg./día, muy por debajo de las tasas señaladas antes en la patología. Se trataba de una administración continuada durante toda la vida. Pero señalemos que tasas de 200 ppm (esto es aproximadamente un promedio de 20 mg./kg./día) daban una supervivencia al año de la mitad respecto al grupo control. Y a las 70 semanas de un 12% frente al 84% del grupo control.

PRESENCIA DE HCB EN EL MEDIO

La presencia hoy de HCB en el medio ambiente es un hecho bien documentado. Algunas aportaciones a estas mismas jornadas lo confirman: desde la de Mansson y Selden, en Suecia, al estudio de su presencia en residuos cárnicos o en las aguas del Ebro terminal. La conferencia que sigue, de los Dres. Mazza y Julien trata de los procesos industriales que pueden explicar su presencia. Hoy mismo sabemos ya que existe

un origen múltiple: industrial de un lado, agrícola de otro. En la reunión de Lyon las aportaciones en este sentido fueron también numerosas. Greve, en Holanda, describe su presencia en aguas de superficie, sedimentos, peces, productos de origen animal, alimentos de animales. En aguas de superficie las tasas eran del orden de las centésimas de microgramos/litro (ppb). En los sedimentos del puerto de Rotterdam eran de un orden unas mil veces mayor, con picos importantes. En el Mediterráneo de la Costa Azul francesa, Fowler y cols., de Mónaco, han estudiado también esta

presencia. Las tasas son del orden de unos pocos ppb., inferiores a las del puerto de Rotterdam. Por expresarlo en unidades del mismo tipo podemos decir que en las aguas de superficie holandesas las tasas son -aproximadamente y con variaciones- del orden de 0,02 ppb; en el sedimento del Mediterráneo, frente a Mónaco, del orden de 2 ppb; en el sedimento de la zona potuaria de Rotterdam del orden de 50 ppb. Existe pues una gradación importante. Luego pasa a los peces. La dinámica del HCB en la cadena alimentaria fue estudiada, en la reunión de Lyon por Uhnak y cols. de Bratislava.

Parece pues evidente que tenemos una presencia de HCB muy generalizada, siquiera en tasas pequeñas, pero detectables. Se encuentra en el agua fluvial y marina, en los sedimentos, en el suelo, en los alimentos. También en los animales de consumo. Por tanto es esperable que se encuentre en la especie humana. Otro dato a tener en cuenta es la diversidad geográfica de la procedencia de los datos. No se trata de un solo país sino que afecta zonas extensísimas y en nuestra Europa Occidental está bien documentada su presencia.

EL HEXACLOROBENCENO EN LA ESPECIE HUMANA: IMPREGNACION

Tenemos también evidencia extensa de la presencia del HCB en el hombre. Esta presencia es en cantidades muy pequeñas, y casi constante en las muestras de población estudiadas. Como se verá en el estudio de J. Planas y cols. en un estudio de 264 muestras de población catalana el promedio es de 2,87 ppm. en grasa abdominal. Curiosamente la tasa menor es en la gran ciudad industrial (Barcelona). Hay niveles más altos en mujeres y su depósito aumenta con la

edad. También hemos de señalar que estas tasas son más bajas que las halladas en un estudio anterior, en la misma zona geográfica, hace seis años. En el estudio de 67 muestras de Zaragoza la tasa media ha sido semejante, con notables diferencias de sexo (casi doble en mujeres). En Alicante parecen menores. Estos datos parecen mayores que los de otros países desarrollados.

Un segundo aspecto importante es el paso de los organoclorados a la leche. La leche materna es un buen eliminador de HCB. Aquí mismo tenemos aportaciones sobre esta presencia. Los estudios de Carmen Conde en diversas zonas de la península (Madrid, Navarra, Avila), indican la presencia ubicua de este contaminante.

En un extenso trabajo de Jensen (1983), recogiendo aportaciones de 11 países, entre 1970 y 1980, las tasas españolas en leche materna son, con mucho, las más elevadas. La presencia en vísceras ha sido también estudiada extensamente. En Barcelona, Jordi To señala, en su tesis de 1984, la presencia de HCB en todas las vísceras estudiadas (suprarrenal (1/2 de tejido adiposo); hígado y tiroides (c. 1/25); cerebro (1/35), riñón (1/55); gónadas (c. 1/75); sangre (1/350). Esto se refiere a tejido total. Si se estudia el extracto lipídico, forma quizá más correcta de medir esta impregnación, (aunque es bastante discutible, probablemente sirve más para el análisis que para la función), vemos que las proporciones están mucho más igualadas. Hígado, tiroides, riñón y gónadas, superan al tejido adiposo (aprox. +20-30%) y en la sangre la tasa es prácticamente el doble. En cerebro en cambio es bastante más baja.

VALORACION DE LOS DATOS

Basta de datos. Aquí importaba señalar esta presencia. Vemos que es general y además en tasas no despreciables. El paso siguiente es la valoración de las cifras: considerar si existe un riesgo con las tasas que encontramos y que perspectiva tenemos.

Hemos dado ya suficientes cifras en órdenes de magnitud bastante distintos, pero en el fondo comparables. Desde los 0,02 ppb en aguas superficiales; a los 2 ppb en aguas

sedimento de las aguas del Mediterráneo; a los 50 ppb en el sedimento de la zona portuaria de Rotterdam. O a los casi 3 ppm. de la grasa humana. Veamos ahora cuales son las cantidades que se consideran tóxicas. Cabral ha señalado valores de 50 hasta 200 ppm en sus experimentos, administrado diariamente durante muchas semanas, toda la vida del animal.

Hay diferencias, de un lado en el orden de magnitud; de otro en la continuidad; de otro de sensibilidad de especie. Existe pues un margen que por ahora es bastante amplio. Pero debemos introducir el concepto de probabilidad. Si las diferencias en las tasas son grandes la probabilidad es pequeña; si el tiempo de exposición es corto o largo la probabilidad varía. En el caso de los contaminantes del medio el tiempo suele ser muy largo, siempre. Pero hay además otro factor a tener en cuenta: el estado previo de la persona: no todos son sanos con la misma resistencia. No siempre el hígado de las personas expuestas tolera del mismo modo un tóxico exógeno.

E igualmente la acción posible -probable- de otros factores, otros cocarcinógenos. En este campo sabemos todavía muy poco: la interacción de diversas sustancias. A menudo se trata de un riesgo casi a ciegas. En grandes masas de población es preciso tener en cuenta, pensar, en la posibilidad de que se den situaciones muy distintas y que personas ya expuestas a determinados cancerígenos, a veces

más de uno sobre todo en el medio laboral, puedan además estar bajo la acción del HCB. Todo esto son factores a tener en cuenta.

UN PROBLEMA DE SALUD PUBLICA

Con lo dicho queda ya dibujado suficientemente el problema. Estudiamos una sustancia que, repetimos ya por última vez, reúne las siguientes cuatro condiciones:

- a) existen episodios conocidos de patología importante.
- b) Se conoce una patología experimental importante.

Existe una clara evidencia de que, en ciertas especies, tiene una acción cancerígena.

c) Es un producto que se halla repartido de manera muy generalizada en el medio (agua, sedimentos, alimentos, vegetales, carnes).

d) Esta comprobada su presencia "habitual" en los tejidos de la especie humana, acumulándose de preferencia en tejidos ricos en lipoides.

Nosotros, los aquí reunidos, conocemos ya estos hechos. Se han publicado, desde hace años, y ahora cada vez más, en las revistas especializadas. Los técnicos conocen el problema. Los responsables de la sanidad probablemente lo conocen poco. Acaso tengan algunos datos, más o menos diluidos entre grandes masas de información. Nuestra tarea es poner el problema sobre la mesa, de manera clara, indudable. Llevar a la conciencia de los responsables del cuidado de la salud pública, esto es a los gobernantes, la existencia de este riesgo.

Quizá sea pequeño; quizá sea grande. En el momento actual no estamos en condiciones de cuantificar la intensidad del riesgo, en particular el cancerígeno. Esto puede pasar con muchas sustancias. Probablemente -damos cifras prudentes pero difíciles de objetivar- más del 25% de los tumores malignos, de los cánceres que diezman la población, que incrementan los registros de mortalidad, tengan su principal origen en sustancias existentes en el medio, en contaminantes químicos. Probablemente sean muchos y el HCB es uno más. Otros tienen acaso mayor riesgo, quizá los derivados antracénicos o hidrocarburos cíclicos, las nitrosaminas. Pero es evidente que la información sobre el riesgo del HCB se inscribe en el denso capítulo de la información sobre los contaminantes con acción cancerígena, esto sobre una de las mayores plagas que afectan a la salud de la humanidad.

Como dice el Dr. Cabral, en una frase que ya he citado antes: "el conjunto de resultados proporciona suficientes evidencias como para recomendar grandes precauciones en la utilización de este producto". Nuestra misión aquí es hacer

conocer el problema a los que deben "recomendar estas precauciones".

**EL HEXACLOROBENCENO:
PROCESOS GENERADORES Y METODOS DE ANALISIS EN EL MEDIO
AMBIENTE.**

M. MAZZA; D. JULLIEN.

Centre d'Etudes et Recherches de Charbonnages de France.

Pueden crearse doce compuestos clorados a partir del benceno por sustitución de uno o varios átomos de hidrógeno por uno o varios átomos de cloro.

El hexaclorobenceno o HCB, objeto principal de esta publicación, corresponde a la molécula de benceno la más sustituida (C6 Cl6).

Las principales características físico-químicas del hexaclorobenceno son las siguientes:

sinónimo	: Perclorobenceno
peso molecular	: 284,72
solubilidad	: no soluble en el agua, poco soluble en el alcohol, soluble en el benceno.
Carácter de inflamación	: inflamable
punto de fusión	: 226° a 229°C
punto de ebulición	: 322°C

FABRICACION Y UTILIZACION DEL HCB

Fabricación

Los bencenos policlorados pueden ser producidos por la cloración en fase vapor del benceno utilizando el aire y el ácido clorhídrico (HCL) como agente de cloración. Sin embargo el costo elevado de tal proceso no ha permitido utilizarlo mucho tiempo.

Más adelante, los clorobencenos fueron producidos por la cloración del benceno en fase líquida, utilizando generalmente el cloruro férrico como catalizador según la reacción de Friedel y Crafts.

Estudios recientes han demostrado que el cloruro férrico hidratado ($FeCl_3 \cdot H_2O$) complejo es probablemente el catalizador más eficaz.

Desde hace algunos años, la fabricación intencional del HCB ha sido interrumpida en numerosos países (1976 para los USA). Sin embargo el IARC (Internacional Agency for Research on Cancer) hace notar (en 1979) la existencia de una sociedad en España que produce alrededor de 150.000 Kg de HCB por año.

Utilización

La principal utilización del HCB, ha sido como fungicida empleado principalmente para la protección de las semillas de trigo.

Sin embargo, parece que el HCB ha sido utilizado en la pirotecnia y en los equipos de artillería hasta los años 70, pero nada se dice en la literatura actual sobre este aspecto.

Pequeñas cantidades de HCB habrían sido utilizadas también en la industria de preservación de la madera pero este hecho no está confirmado por los mismos industriales.

Parece también que el HCB ha sido utilizado igualmente como agente dispersante en la fabricación de los neumáticos de los automóviles, como ha sido precisado por STAUFFER CLEMENT, el principal fabricante de HCB en 1974 en los USA.

Sin embargo, los diferentes estudios señalados por la EPA en 1983 sobre este proceso, no indican la utilización del HCB en la producción de caucho sintético.

EL HEXACLOROBENCENO EN EL MEDIO AMBIENTE.

Fuente de contaminación.

Aunque la producción industrial del HCB haya sido suspendida como producto final, este queda siempre presente en el medio ambiente como desecho industrial, subproducto, o impureza en numerosos procesos químicos.

Las principales fuentes de contaminación provienen de la fabricación de pesticidas y de ciertos solventes clorados, 4.130 toneladas de HCB habrían sido generadas desde estas industrias.

Fabricación de los pesticidas

En la fabricación de los pesticidas, el HCB no está generado como subproducto pero queda más bien presente como impureza.

La cantidad anual de HCB formada en esos procesos industriales es estimada en 950 toneladas.

Diferentes medidas tomadas por la EPA en 1982 limitaban la presencia de HCB en el pentacloronitrobenceno a 0,5% para llegar a un valor límite en 0,1% en 1988. En efecto, se había notado niveles entre 2 y 11% de HCB en la composición de los pesticidas.

Los cinco pesticidas siguientes son conocidos por contener HCB:

- el pentaclorobenceno
- el pentaclorofenol
- el dimetil tetracloro tere-talato
- el M. nitrocloroftalonitrilo
- el diclorano

Por otra parte, 135 pesticidas (tabla I) que pueden clasificarse en 7 categorías, son susceptibles de contener HCB:

- pesticidas derivados del tetraclorobenceno
- pesticidas derivados del triclorobenceno
- pesticidas derivados del triclorotolueno
- pesticidas derivados del clorofenol
- pesticidas derivados de los Cas S-Triazinas
- pesticidas derivados del clorociclopentadieno
- otros.

Los solventes clorados

La más importante fuente de HCB proviene actualmente de la producción de los solventes clorados (tabla 2).

En los procesos utilizados, el HCB puede formarse como subproducto durante las fases de cloración o de oxiclорación y durante ciertas operaciones de "cracking".

En los Estados Unidos, alrededor de 3.200 toneladas (es decir 75% del total de HCB producido) provendrían de los principales solventes siguientes:

- el tetracloruro de carbono
- el tricloroetileno
- el percloroetileno

La producción de otros solventes como el dicloroetileno, el tricloroetano y algunos clorobencenos pueden presentar muestras de HCB, que parecen sin embargo mínimas.

Antes de los años 70, el HCB podía formarse durante la producción del cloro por electrólisis del cloruro de sodio. Esto era atribuido a la reacción del cloro naciente sobre los electrodos de grafito. Después de los años 70, la producción de cloro ha sido modificada reemplazando los electrodos de grafito por electrodos metálicos, eliminando así la producción de HCB.

Los sitios de contaminación

Por su gran estabilidad, el HCB puede hallarse en todos los sistemas del medio ambiente, es decir el aire, el medio acuático y los sedimentos, desarrollando de este modo un potencial de contaminación en la cadena alimenticia.

Contaminación del aire

El HCB esta esparcido en el aire mediante las partículas de polvo y proviene generalmente de su volatilización a partir de las fábricas cuyos procesos presentan una alta concentración de HCB.

Las partículas contaminadas por el HCB, constituyen la principal fuente de la presencia del HCB en la sangre de los habitantes que viven cerca de ciertas zonas industriales.

Contaminación de los suelos

La lixiviación de los suelos por las lluvias no influencia de ninguna manera la concentración de HCB que se puede hallar en los sedimentos dado que es totalmente insoluble.

El HCB resiste a la degradación microbiana tal como ha sido demostrado por los análisis del suelo efectuados a intervalos de seis meses.

La mitad del período de vida del HCB en los suelos, bajo condiciones controladas, es de 4 años aproximadamente. Incorporaciones conocidas de esta substancia en los suelos bajo condiciones aeróbicas esterilizadas o no esterilizadas, y anaeróbicas no esterilizada, han demostrado que el nivel de HCB no variaba en un período de 1 año.

Sin embargo, análisis efectuados "in situ" en los sedimentos del Rhin han demostrado una tasa de reducción del nivel de HCB de 40% en una año, es decir una concentración de éste que pasó de 0,01 a 0,006 ppb.

Contaminación de las aguas

Los autores están de acuerdo en estimar el período de vida medio del HCB en las aguas de los ríos de 0,3 a 3 días y de 30 a 300 días para las aguas subterráneas y los lagos. Ninguna degradación bacteriana del HCB se ha observado en las aguas tal como ha sido demostrado en condiciones controladas. La eliminación del HCB en medio acuático parece provenir de 3 factores:

- absorción por organismos acuáticos
- absorción por los sedimentos
- evaporación en superficie

Reducción de la contaminación

Con objeto de eliminar una parte de los contaminantes del medio ambiente, ciertas sociedades químicas han debido introducir cambios en sus instalaciones industriales, recurriendo entre otras medidas, a procesos de dechloración de los efluentes. Se puede citar por ejemplo a la sociedad holandesa AKZO que invirtió en 1985, 5,5 millones de florines con objeto de construir una instalación de purificación de los desechos de sus fábricas en Holanda.

La purificación incluye en particular la reducción de la tasa de hexaclorobenceno, después de la separación del contaminante del agua, por el paso del HCB a través de un filtro de carbono activo.

Por otra parte, el Consejo de las Comunidades Europeas ha fijado, a partir de ahora, los contenidos máximos de residuos de pesticidas en la superficie y dentro de los productos alimenticios de origen animal. Los Estados miembros deben cumplir con las disposiciones legislativas reglamentarias y administrativas necesarias para conformarse con la directiva del 24 de Julio de 1986, y esto antes del 30 de junio de 1988 (tabla 3).

En cuanto al hexaclorobenceno, el contenido no puede sobrepasar 0,2 ppm en las carnes y 0,01 en la leche, la mantequilla o los quesos; la tabla III indica los diferentes contenidos máximos admisibles para un cierto número de residuos pesticidas.

CARACTERIZACION DE LOS CONTAMINANTES ORGANICOS

Las técnicas analíticas utilizadas en la determinación de los contaminantes orgánicos han sido fuertemente desarrolladas en estos últimos años. Sin embargo, no se debe subestimar que la obtención de las muestras es determinante en las tasas de contaminación, en particular para las muestras de aire. Estas pueden ser efectuadas por aspiración del aire a través de un cartucho que posee un soporte capaz de retener los compuestos investigados.

En todo análisis de trazas (figura 2) se recomienda dejar de lado al máximo la matriz básica para obtener solamente los compuestos buscados. Estos se obtienen efectuando "clean-up" sobre extractos orgánicos, es decir depositando sobre columnas conteniendo un soporte de tipo sílice, alumina, florisil, carbono activo..., y eluyendo los solventes de diferentes polaridades con el fin de obtener fracciones conteniendo compuestos de las mismas clases químicas.

Después sobre las fracciones así obtenidas, se puede identificar y cuantificar los contaminantes orgánicos.

Actualmente, diferentes métodos son accesibles:

- la cromatografía gaseosa sobre columna capilar con detección por captura de electrones.
- la cromatografía líquida de alto rendimiento.
- la cromatografía líquida y de gases-espectrometría de masa.

Los dos primeros métodos permiten detectar cantidades mínimas de hexaclorobenceno.

Sin embargo, la determinación de este compuesto se hace por comparación del tiempo de retención con el de un patrón de referencia previamente analizado. Pero subsiste siempre una duda en cuanto a la exactitud de la identificación cuando existen soluciones que presentan otras sustancias que no han podido ser eliminadas en la fracción del compuesto buscado.

Es entonces necesario efectuar una cromatografía-espectrometría de masa a fin de identificar de manera segura el contaminante.

Si este último método no permitía, años atrás, llegar a determinar umbrales de detección tan pequeños como los de CG/ECD, por el contrario los nuevos instrumentos permiten hoy identificar y dosificar los constituyentes cuyas concentraciones son del orden de algunas decenas de picogramos contenidos en la muestra y al mismo momento permiten no tomar en cuenta los compuestos interferentes.

Se procede sobre la fracción enriquecida después de la separación y del "clean-up" de la manera siguiente:

- seguimiento de uno o varios iones característicos del contaminante buscado en resolución baja o alta.
- dosificación en base a un patrón de referencia introducido en la muestra. Este patrón de referencia es generalmente la misma molécula que la que se quiere dosificar pero marcada con deuterio, con carbono 13 o con cloro 37.

El rendimiento de las diferentes operaciones de análisis se estima también al agregar compuestos dosificados próximos al buscado, antes de cualquiera operación de extracción. El método de los agregados dosificados permite validar el método de extracción utilizado.

Esta metodología (figura 1) es aplicable a cualquier contaminante orgánico buscado; es por eso que se pueden detectar los compuestos tóxicos tales como los policlorobifenilos (PCB), las dioxinas cloradas, los benzofuranos clorados (figura 2), los hidrocarburos policíclicos aromáticos, el hexaclorobenceno en concentraciones muy bajas y eso cualquiera que sea la matriz. Por ejemplo, se dan los umbrales actualmente accesibles para los compuestos siguientes:

- tetraclorobenzodioxina, (dioxina Seveso): 10 ppt en el agua, 1 ppb en los sedimentos.
- policlorobifenilos: 10 ppb (figura 3).

CONCLUSIONES

Así el hexaclorobenceno, utilizado durante largos años en la agricultura y cuya producción intencional parece

haberse parado, existe todavía como impureza o subproducto de diversas fabricaciones industriales, tales como los pesticidas o los solventes clorados.

Su alta estabilidad química y su muy leve degradación microbiana hacen de él, un contaminante en todos los sistemas del medio ambiente, implicando así una contaminación potencial de la cadena alimenticia. Es así que ha sido observada una acumulación de HCB en los tejidos humanos y en la leche materna.

Los diferentes tratamientos químicos aplicados a las muestras y los instrumentos de análisis actualmente disponibles en el mercado, permiten determinar cantidades ínfimas de contaminante en diversas matrices. De manera más general, las metodologías utilizadas son frecuentemente traspuestas de un contaminante para otro.

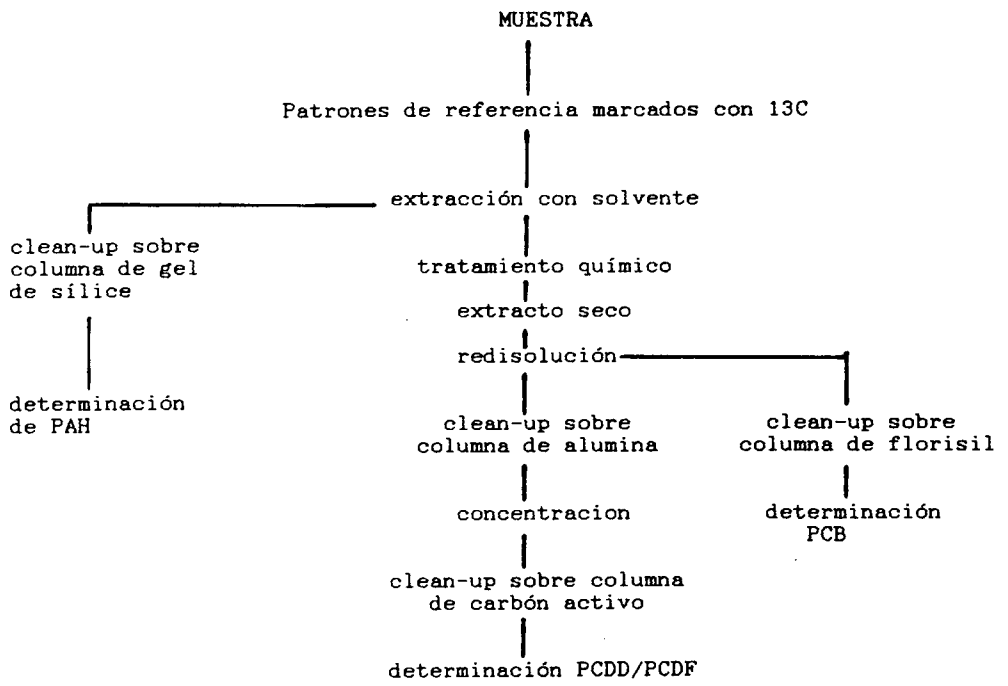
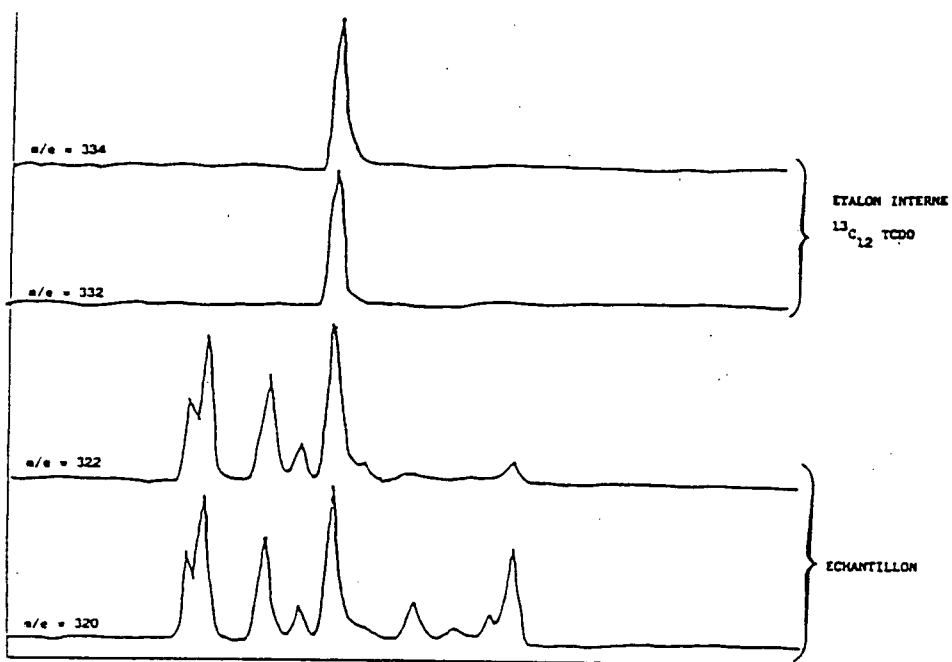


FIGURA 1

FIGURA II

DETERMINATION DES TETRACHLORODIBENZODIOXINES (TCDD)



(continuation)

- C. *Other 1,2,4,5-tetrachlorobenzene-derived pesticides*
1. Hexachlorophene (70-30-4)
 2. 1,2,4,5-Tetrachloro-3-nitrobenzene (117-18-0)
 3. 4-(2,4,5-Trichlorophenoxy)butanoic acid (93-80-1)
 4. 2,4,5-Trichlorophenol (95-95-4)
 5. 2-(2,4,5-Trichlorophenoxy)ethyl-2,2-dichloro-propanoate (136-25-4)
 6. 2,4,5-Trichlorophenol, sodium salt (136-32-3)
 7. *O,O*-Dimethyl-*o*-(2,4,5-trichlorophenyl)phosphorothioate (299-84-3)
 8. *O*-Ethyl-*O*-(2,4,5-trichlorophenyl)phosphonothioate (327-98-0)
 9. 3,5,6-Trichloro-*o*-anisic acid (2307-49-5)
 10. Hexachlorophene, disodium salt (3247-34-5)
 11. 2-(2,4,5-Trichlorophenoxy)ethanol-1-hydrogen sulfate sodium salt (3570-61-4)
 12. Hexachlorophene, monosodium salt (5736-15-2)
 13. 2,4,5-Trichlorophenol, potassium salt (35471-43-3)
 14. 2,6-Bis[(dimethylamino)methyl]cyclohexanone, compound with 2,4,5-trichlorophenol (53404-83-4)
 15. 1-Chloro-*N*-[(4,5-dichloro-2-(2,4,5-trichlorophenoxy))phenyl]methanesulfonamide, sodium salt (69462-14-2)
 16. 2-(2,4,5-Trichlorophenoxy)-ethanol-1-hydrogen sulfate (69633-04-1)
- III. *Trichlorobenzene and derivatives*
1. *p*-Chlorophenyl-2,4,5-trichlorophenyl sulfone (116-29-0)
 2. 1,2,4-Trichlorobenzene (120-82-1)
 3. 2-Chloro-1-(2,4,5-trichlorophenyl)vinyl dimethyl phosphate (961-11-5)
- IV. *Trichlorotoluene derivatives*
1. 2,3,6-Trichlorobenzoic acid (50-31-7)
 2. 2,3,6-Trichlorobenzene acetic acid (85-34-7)
 3. 2,3,6-Trichlorobenzoic acid, sodium salt (2078-42-4)
 4. 2,3,6-Trichlorobenzeneacetic acid, sodium salt (2439-00-1)
 5. 2,4,5-Trichlorobenzene acetic acid (2903-64-2)
 6. 2,3,6-Trichlorobenzeneacetic acid, dimethylamine salt (3426-62-8)
 7. 2,3,6-Trichlorobenzeneacetic acid, ammonium salt (53404-90-3)
 8. 2,4,5-Trichlorobenzeneacetic acid, sodium salt (53404-91-4)
 9. 2,3,6-Trichlorobenzeneacetic acid, dimethylamine salt (69462-13-1)
- V. *Chlorophenol derivatives*
1. 2,4,6-Trichlorophenol (88-06-2)
 2. Pentachlorophenol, sodium salt (131-52-2)
 3. 1,3,5-Trichloro-2-(4-nitrophenoxy)benzene (1836-77-7)
 4. 2,4,6-Trichlorophenol potassium salt (2591-21-1)
 5. Pentachlorophenol, zinc salt (2917-32-0)
 6. 2,2,2-Trichloro-*N*-(pentachlorophenyl)acetimidoyl chloride (3583-63-9)
 7. 2,4,5-Trichlorophenol, sodium salt (3784-03-0)
 8. Pentachlorophenol, potassium salt (7778-73-6)
 9. Pentachlorophenol, ethylmercury salt (22232-28-6)
 10. Pentachlorophenol dihydrodiethylamine salt (35109-57-0)

- VI. *S-Triazine derivatives*
1. *S-Triazine-2-methanethiol, 4,6-diamino-, S-ester with O,O-dimethyl phosphorodithioate* (76-57-9)
 2. *S-Triazine, 2,4-dichloro-6-(o-chloroanilino)-* (101-05-3)
 3. *S-Triazine, 2,4-bis(ethylamino)-6-chloro-* (122-34-9)
 4. *S-Triazine, 2,4-bis(isopropylamino)-6-chloro-* (139-40-2)
 5. *S-Triazine, 2-chloro-4,6-bis(diethylamino)-* (580-48-3)
 6. *S-Triazine, 2,4-bis(ethylamino)-6-methoxy-* (673-04-1)
 7. *S-Triazine, 2-ethylamino-4-isopropylamino-6-methylthio-* (834-12-8)
 8. *S-Triazine, 2-isopropylamino-4-(3-methoxypropyl)amino-6-methylthio-* (841-06-5)
 9. *S-Triazine, 2,4-bis(3-methoxypropyl)amino-6-methylthio-* (845-52-3)
 10. *S-Triazine, 2-tert-butylamino-4-ethylamino-6-methylthio-* (886-50-0)
 11. *S-Triazine, 2-isopropylamino-4-methylamino-6-methylthio-* (1014-69-3)
 12. *S-Triazine, 2,4-bis(ethylamino)-6-methylthio-* (1014-70-6)
 13. *S-Triazine, 4-ethylamino-6-isopropylamino-2-methoxy-* (1610-17-9)
 14. *S-Triazine, 2,4-bis(isopropylamino)-6-methoxy-* (1610-18-0)
 15. *S-Triazine, 2-methoxy-4,6-bis(3-methoxypropyl)amino-* (1771-07-9)
 16. *S-Triazine, 2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino-* (1912-24-9)
 17. *S-Triazine, 2-chloro-4-diethylamino-6-isopropylamino-* (1912-25-0)
 18. *S-Triazine, 2-chloro-4-diethylamino-6-ethylamino* (1912-26-1)
 19. *S-Triazine, 2-diethylamino-4-isopropylamino-6-methoxy-* (3004-70-4)
 20. *S-Triazine, 2,4-bis(isopropylamino)-6-ethylthio-* (4147-51-7)
 21. *S-Triazine, 2-azido-4-isopropylamino-6-methylthio-* (4658-28-0)
 22. *S-Triazine, 2-(tert-butylamino)-4-chloro-6-ethylamino-* (5915-41-3)
 23. *S-Triazine, 2-(sec-butylamino)-4-chloro-6-ethylamino-* (7286-69-3)
 24. *S-Triazine, 4,6-bis(isopropylamino)-2-methylmercapto-* (7287-19-6)
 25. *S-Triazine, 2,4,6-tris(chloroimino)hexahydro-(chloromelamine)* (7673-09-8)
 26. *S-Triazine, 2-chloro-4-ethylamino-6-(1-cyano-1-methyl)ethylamino-* (21725-46-2)
 27. *S-Triazine, 2-chloro-4-cyclopropylamino-6-isopropylamino-* (22936-86-3)
28. *S-Triazine, 2-(sec-butylamino)-4-ethylamino-6-methoxy-* (26259-45-0)
 29. *S-Triazine, 2-chloro-4-hydroxymethylamino-6-isopropylamino-* (29450-57-5)
 30. *propionitrile, 2-(4-chloro-6-cyclopropylamino-S-triazin-2-yl)amino-2-methyl-* (32889-48-8)
 31. *S-Triazine, 2-tert-butylamino-4-ethylamino-6-methoxy-* (33693-04-8)
 32. *S-Triazine-2,4-diamine, N-(1,2-dimethylpropyl)-N-ethyl-6-methylthio-* (69632-96-8)
- VII. *Chlorinated-cyclopentadiene derivatives*
1. *Octachlorohexahydrmethanoidene (chlorodane)* (57-74-9)
 2. *Hexachloroepoxyoctahydro-endo, endo-dimethanonaphthalene (endrin)* (72-20-8)
 3. *3,4,5,6,7,8,8a-Heptachlorodicyclopentadiene (heptachlor)* (76-44-8)
 4. *Hexachlorohexahydrmethanobenzodioxathiepin 3-oxide (endosulfan)* (115-29-7)
 5. *Bis(pentachloro-2,4-cyclopentadien-1-yl) (dienochlor)* (2227-17-0)
 6. *Hexachlorocyclopentadiene dimer (mirex)* (2385-85-5)
- VIII. *Miscellaneous*
1. *2,3,5,6-Tetrachloro-2,5-cyclohexadiene-1,4-dione (chloranil)* (118-75-2)
 2. *Maleic hydrazide* (123-33-1)
 3. *1-[(2,3,6-Trichlorophenyl)methoxy]-2-propanol* (1861-44-5)
 4. *Tetrasul* (2227-13-6)
 5. *p-Chlorophenyl-2,4,5-trichlorophenylazo sulfide* (2274-74-0)
 6. *5,6,7,8-Tetrachloroquinaxaline (lucel)* (3495-42-9)
 7. *1,3,5-Trichloro-2-[2-(2-chloroethoxy)ethoxy]benzene* (5324-22-1)
 8. *2,3,5,6-Tetrachlorobenzoic acid, dimethylamine salt* (7122-64-7)
 9. *2,3,5,6-Tetrachloro-N-methoxy-N-methyl-terephthalamic acid, methyl ester* (14419-01-3)
 10. *N-(2,4,6-Trichlorophenyl)benzenecarbohydrazonyl chloride* (25939-05-3)
 11. *1,3,4-Trichloro-2,5-dimethoxybenzene* (69653-71-0)

TABLA II

List of 26 industrial compounds known or suspected to be associated with hexachlorobenzene (HCB) as a by-product

Chemical	Synthesis
<i>I. Industrial chemicals (CAS Number) with known HCB by product</i>	
1. Chlorine (7782-50-5)	$\text{NaCl} + e$
2. Carbon tetrachloride (56-23-5)	$\text{C}_1\text{-C}_3 + \text{Cl}_2/450^\circ\text{C}$
3. Perchloroethylene (127-18-4)	$\text{C}_1\text{-C}_3 + \text{Cl}_2/450^\circ\text{C}$
4. Trichloroethylene (79-01-6)	$\text{C}_1\text{-C}_3 + \text{Cl}_2/450^\circ\text{C}$
5. Pentachlorobenzene (608-93-5)	$\text{Benzene} + \text{Cl}_2/>200^\circ\text{C}$
<i>II. Industrial chemicals with potential for hexachlorobenzene as a by-product</i>	
<i>(a) Chlorinated solvents</i>	
1. Hexachloroethane (67-72-1)	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2 + \text{Cl}_2/140^\circ\text{C}$
2. 1,1,2-Trichloro-1,2,2-trifluoroethane (76-13-1)	$\text{Cl}_2\text{C}=\text{CCl}_2 + \text{HF}/400^\circ\text{C}$
3. 1,1,2-Trichloroethane (79-00-5)	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2 + \text{Cl}_2/120^\circ\text{C}$
4. Ethylene dichloride (107-06-2)	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2 + \text{HCl}/300^\circ\text{C}$
5. Chlorinated biphenyls (1336-36-3)	$\text{Biphenyl} + \text{Cl}_2/150^\circ\text{C}$
6. Chlorinated naphthalene	$\text{Naphthalene} + \text{Cl}_2$
7. Chlorobenzenes	$\text{Benzene} + \text{Cl}_2/190^\circ\text{C}$
8. Dichloropropenes	$\text{Propylene} + \text{Cl}_2/500^\circ\text{C}$
<i>(b) Chlorinated monomers</i>	
1. Vinyl chloride monomer (75-01-4)	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl} + \text{heat}$
2. 2-Chlorobutadiene (126-99-8)	$\text{Butadiene} + \text{Cl}_2/335^\circ\text{C}$
<i>(c) Chlorinated intermediates</i>	
1. Phosgene (75-44-5)	$\text{CO} + \text{Cl}_2/200^\circ\text{C}$
2. Hexachlorocyclopentadiene (77-47-4)	$\text{Cyclopentene} + \text{Cl}_2(335^\circ\text{C})$
3. Allyl chloride (107-05-1)	$\text{Propylene} + \text{Cl}_2/510^\circ\text{C}$
4. Cyanuric chloride (108-77-0)	$\text{Cl-CN}/250\text{--}480^\circ\text{C}$
5. Tetrachlorophthalic anhydride (117-08-8)	$\text{Phthalic anhydride} + \text{Cl}_2$
<i>(d) Electrolysis chemicals</i>	
1. Sodium metal (7440-23-5)	$\text{NaCl} + e^-$
2. Sodium chlorate (7601-89-0)	$\text{NaCl} + e^-$
<i>(e) Other chemical production</i>	
1. Titanium dioxide (13463-67-7)	$\text{TiO}_2 + \text{Cl}_2/1000^\circ\text{C}$
2. Toluene diisocyanate (26471-62-5)	$\text{TDA} + \text{ClCOCl}/160^\circ\text{C}$ (in dichlorobenzene)
3. Reactive azo dyes from cyanuric chloride	$\text{Cyanuric chloride} + \text{RNH}_2$
4. Phthalocyanine dyes and pigments	$\text{Dye} + \text{Cl}_2/200^\circ\text{C}$

TABLA III

DIRECTIVAS DEL CONSEJO DE LAS COMUNIDADES
EUROPEAS DEL 24 JULIO DE 1986

RESIDUOS DE LOS PESTICIDAS	CONTENIDOS MAXIMOS EN LAS CARNES (ppm)	CONTENIDOS MAXIMOS EN LA LECHE (ppm)
Aldrina } Dieldrina }	0,2	0,006
Chlordano	0,05	0,002
DDT	1	0,04
Endrina	0,05	0,008
Heptacloro	0,2	0,04
<u>Hexaclorobenceno</u>	<u>0,2</u>	<u>0,01</u>
Hexaclorociclohexano		
- isomero alpha	0,2	0,004
- isomero beta	0,1	0,003
- isomero gamma (lindano)	2	0,008

HEXACLOROBENCENO EN TEJIDO ADIPOSEO HUMANO

J. TO FIGUERAS

U.E.R. Medicina Legal, Laboral i Toxicología. Servei de Toxicología. Hospital Clínic i Provincial. Facultat de Medicina. Barcelona.

RESUMEN

La introducción de hexaclorobenceno (HCB) al medio ambiente en forma de fungicida o como residuo industrial ha sido constante en las últimas décadas en gran número de países y áreas diversas. La evidencia del elevado potencial carcinogénico y porfirinogénico de este compuesto ha puesto en marcha la necesidad de una evaluación de los niveles de contaminación y de una monitorización del grado de acumulación de este compuesto en los tejidos de la población humana. Las características físico-químicas del HCB, su elevada lipofilia, la incapacidad de los enzimas microsomales hepáticos de metabolizar eficazmente esta molécula, su ligamen con las proteínas plasmáticas y su elevado cociente de reparto tejidos:plasma determinan el que gran parte del HCB ingerido no puede ser eliminado y quede retenido en los tejidos ricos en lípidos. Los distintos sistemas ensayados para reducir los acúmulos de HCB en el organismo (estimulación microsomal hepática, ayuno prolongado, estimulación de la excreción fecal no biliar, etc.) no han aportado, hasta el momento, ventajas significativas exentas de riesgos secundarios.

El tejido adiposo constituye el gran reservorio de residuos organoclorados y junto con la leche materna es el mejor indicador de la acumulación total de HCB en el organismo. Por ello se utiliza habitualmente para la

estimación de la incidencia de la contaminación por HCB en una determinada zona geográfica o grupo poblacional. Sin embargo la concentración de HCB en éste tejido puede sufrir variaciones por una serie de factores (edad, sexo, ayuno, alteraciones del metabolismo lipídico, etc.) que debe tenerse en cuenta en la interpretación de los resultados. También deben tenerse en cuenta algunos aspectos importantes de la metodología analítica ligados a la necesidad de distinguir con exactitud los residuos de HCB de otros compuestos similares igualmente presentes en las muestras. La aplicación de estas técnicas en España a partir del año 1981 ha puesto de manifiesto que en nuestro país existen zonas donde la contaminación por HCB supera ampliamente la de otros países europeos y americanos. Una notable concordancia se está obteniendo en este sentido entre los estudios realizados sobre tejido adiposo y los realizados sobre leche materna. Un serio problema la constituye, sin embargo, el hecho de que por el momento no se conocen con exactitud las fuentes de introducción de este compuesto en nuestro país. Las posibles diferencias entre poblaciones de zonas agrícolas y zonas industriales, la relación con la edad y el sexo, la relación entre la presencia de HCB y la de otros compuestos organoclorados relacionados (pentaclorofenol, bifenilos policlorados, dioxinas, etc.) y la presencia de HCB en los alimentos, están siendo investigados para esclarecer este origen.

INTRODUCCION

La utilización de HCB como fungicida y la emisión de residuos de este compuesto al medio ambiente a través de vertidos industriales empezó probablemente hace ya varias décadas (1,2,5,9). Sin embargo sólo recientemente las propiedades toxicológicas de este compuesto han empezado a causar gran preocupación a la comunidad científica internacional. Han habido dos grandes ramas en la investigación relacionada con el HCB que ha aportado importantes resultados y han contribuido decisivamente a aumentar el interés por este compuesto a nivel internacional, interés que culminó con la celebración del primer Symposium Internacional sobre Hexaclorobenceno el año 1986 bajo los auspicios de la OMS (45).

En primer lugar existen numerosos grupos que investigan los diversos aspectos de la toxicodinamia y la toxicocinética

de este producto. La capacidad tóxica del HCB sobre el hombre fue conocida a raíz de la intoxicación masiva en Turquía en la segunda mitad de la década de los años 50. Miles de personas que habían ingerido grano de trigo contaminado con HCB presentaron un cuadro clínico muy parecido al de la porfiria cutánea tarda y los efectos fueron devastadores en varias poblaciones de aquel país (22,23,24,25).

Ello motivó que en los años posteriores gran número de equipos investigaran los efectos del HCB sobre la síntesis de porfirinas y, aunque el mecanismo de acción del compuesto presente actualmente incógnitas importantes, no cabe ninguna duda de que el HCB es capaz de inducir serios trastornos en la ruta de biosíntesis de las porfirinas tanto en el hombre como en animales de experimentación (26,27,28,29,30).

De la misma forma diversos trabajos (6,8,31,32,33) han podido demostrar que el HCB es un compuesto carcinogénico en diversos animales y ello abre la importante cuestión de los posibles efectos que sobre el hombre puede causar la ingesta de pequeñas cantidades de este compuesto a través de la dieta de forma continua y durante períodos de tiempo prolongado.

Una segunda rama de la investigación sobre HCB se ha ocupado preferentemente de la detección de los residuos de este compuesto en muestras del medio ambiente como aire, aguas, tejidos animales o vegetales y también tejidos de la población humana.

Los resultados de este tipo de estudios en la última década han sido hasta cierto punto sorprendentes, por cuanto han puesto de manifiesto que este compuesto presenta una enorme ubicuidad, encontrándose presente en cantidades apreciables, en los tejidos de gran número de poblaciones animales y humanas sobre todo en las áreas industriales del planeta (11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21). Con ello el HCB ha dejado de ser un problema circunscrito en el espacio y el tiempo y que afecta a grupos de población reducidos, para pasar a ser un problema toxicológico que sobrepasa las fronteras nacionales y que afecta a grandes grupos de población.

Uno de los análisis cuyos resultados más han impactado a la comunidad científica y hasta a la opinión pública han

sido los que han puesto en evidencia que el HCB se encuentra acumulado en concentraciones importantes en los tejidos de las poblaciones humanas de los países industrializados.

De hecho la gran mayoría de estos estudios epidemiológicos utilizan normalmente dos tipos de muestra: o bien el tejido adiposo o bien la leche materna.

Las características químicas de la molécula de HCB inducen el que este compuesto tenga una cinética en el organismo humano que favorece su acumulación en el organismo, especialmente en el tejido adiposo.

El HCB se ingiere generalmente disuelto en los lípidos de la dieta. Su carácter lipófilo le permite atravesar fácilmente por difusión pasiva las membranas de las mucosas intestinales, y ser absorbido mayoritariamente a través del sistema linfático.

Una vez en la sangre y debido a su escasa hidrosolubilidad, el HCB se transporta ligado a las proteínas plasmáticas y a las células y se distribuye por los tejidos y órganos de acuerdo probablemente con el contenido en triglicéridos. En estas condiciones se establece un equilibrio dinámico en el que se mantienen relativamente constantes los cocientes de concentración entre los diversos tejidos y la sangre y el tejido adiposo se constituye como el reservorio donde se acumula más del 90% por ciento del HCB presente en el organismo.

Ello no significa que las concentraciones que pueden encontrarse en el hígado o el cerebro, aun sensiblemente inferiores a las del tejido adiposo, no tengan importancia desde un punto de vista toxicológico. En realidad es todo lo contrario dado que es en estos tejidos donde el HCB desarrolla sus manifestaciones tóxicas específicas como la carcinogénesis, la porfirinogénesis o las alteraciones de la conducción nerviosa. Además esta acumulación de HCB en el tejido adiposo aunque presenta efectos positivos dado que sustrae gran parte del tóxico de su contacto con las células diana presenta al mismo tiempo riesgos a largo plazo dado que este HCB acumulado en la grasa es susceptible de ser movilizado en determinadas circunstancias como es el caso del ayuno o del embarazo.

Además de esta gran afinidad del HCB por los tejidos ricos en triglicéridos, otros factores inducen esta acumulación y la retención prolongada de HCB en los tejidos. Por un lado está la incapacidad relativa del hígado para transformar de una forma eficaz la molécula de HCB formando un producto más hidrosoluble que pueda ser eliminado.

Los diferentes isoenzimas microsomales hepáticos que normalmente intervienen en la oxidación de gran número de sustratos xenobióticos son poco eficaces en este caso y la molécula de HCB aunque es oxidada por las monooxigenasas dependientes del citocromo P-450, el proceso se verifica a una velocidad muy lenta si se compara con la carga corporal total del producto y contribuye de forma escasa a la cinética global de eliminación del tóxico. De hecho, la misma molécula de HCB es capaz de inducir la síntesis de los enzimas microsomales, constituyendo un inductor relativamente potente de tipo mixto, es decir que es capaz de inducir tanto los isoenzimas inducibles por el fenobarbital como los inducibles por 3-metil colantreno.

Los principales metabolitos urinarios del HCB que resultan de la oxidación microsomal hepática son el pentaclorofenol y su forma glucuronizada acompañado de otros clorofenoles del tipo tri y tetraclorofenol, tetraclorohidroquinona, y distintos clorobencenos (tabla 1).

El metabolito mayoritario lo constituye el pentaclorofenol que es un componente habitual de la orina de la población humana de las grandes áreas industriales. Sin embargo aunque se sigue discutiendo el origen de estas concentraciones urinarias de pentaclorofenol no ha podido ser demostrado que éste provenga mayoritariamente del metabolismo endógeno del HCB ingerido (46).

De todas formas este metabolismo hepático del HCB tiene escasas consecuencias para la cinética del compuesto en el organismo pero tiene en cambio decisiva importancia de cara a la mayoría de sus manifestaciones tóxicas que se ven potenciadas por la presencia de los inductores del sistema P-450 b, o P-450 c, d, y que por tanto se supone que estas manifestaciones tóxicas están mediadas por algún metabolito reactivo del HCB o por radicales libres del oxígeno que se forma concomitantemente a los procesos oxidativos microsomales iniciados por el HCB (26,39).

Un tercer factor que determina esta extensa acumulación de HCB en el tejido adiposo humano lo constituye la relativa ineficacia de los procesos de excreción. De hecho tanto el ligamen del HCB a las proteínas plasmáticas, como el elevadísimo conciente de reparto tejidos-plasma, como la facilidad de absorción de la molécula a nivel tubular dificultan seriamente la excreción urinaria del compuesto que en su forma original es prácticamente nula, y sólo se produce en forma de metabolitos del tipo del pentaclorofenol constituyéndose así la tasa de oxidación microsomal en el factor limitante de la excreción del compuesto. Existe además una tasa constante pero pequeña en relación con la carga corporal total de excreción de HCB por vía fecal, excreción que no efectúa mayoritariamente por vía biliar sino por difusión pasiva directa de HCB a la luz intestinal. De hecho la única vía realmente efectiva de excreción de HCB lo constituye la eliminación a través de la leche materna, aunque como es obvio ello constituye un importante riesgo de intoxicación para el lactante.

El cuadro general que se desprende de nuestros conocimientos actuales de la cinética del HCB en el organismo humano indican que se trata de un compuesto con elevada retención hística, elevadísimo volumen de distribución, una vida media que algunos autores han situado en el caso del mono rhesus entre 3-6 años, un metabolismo prácticamente inefectivo de cara a la cinética pero decisivo de cara a la reactividad y toxicidad del compuesto y en conjunto un patrón de distribución, acumulación y excreción muy parecido a los de los compuestos organoclorados más persistentes como el DDT o las especies de PCBs de más alto grado de cloración.

Estas características toxicocinéticas del HCB han convertido en muy problemáticas las diferentes estrategias que se han ensayado para reducir la carga corporal total del producto. Por un lado se ha ensayado la estimulación del metabolismo y concretamente la conversión del hexaclorobenceno a pentaclorofenol mediante estimulación de los enzimas microsomales hepáticos. Sin embargo aunque tanto los inductores tipo fenobarbital como los inductores tipo 3-metil colantreno aumentan significativamente la tasa de metabolización del HCB a pentaclorofenol este aumento no representa una disminución significativa del HCB acumulado por el hecho de que el producto efectivamente disponible para

la metabolización es una fracción muy pequeña de la carga total.

Ha sido ensayado también si el ayuno y la movilización lipídica que sigue pueden modificar el grado de acumulación del residuo (47,64). Sin embargo el ayuno produce una serie de modificaciones en la cinética del HCB que pueden resultar peligrosas dadas las potencialidades tóxicas del compuesto. Por un lado la movilización lipídica no produce una movilización estrictamente proporcional de los residuos acumulados en este tejido con lo que el HCB tiende a quedar concentrado en una fracción de masa más pequeña, aumentando así su concentración en el tejido adiposo. Por otra parte, la fracción de residuo movilizable, tiende a redistribuirse más que excretarse con lo que se produce un aumento de la concentración del residuo en todos los tejidos y órganos incluidos los tejidos diana de la toxicidad como el hígado o el cerebro con el consiguiente aumento del riesgo tóxico.

Asimismo hay un aumento del HCB circulante y concomitantemente un cierto aumento de la excreción fecal del residuo dado que ésta al producirse por una vía fecal-no biliar depende de un equilibrio de concentraciones entre sangre y heces. Sin embargo este aumento de la excreción fecal tiende a ser poco importante en comparación con los niveles de acumulación tisular y en muchos casos este aumento se puede ver antagonizado por otros factores como la disminución del volumen fecal que se produce como consecuencia del ayuno.

En cualquier caso los riesgos derivados de esta redistribución parecen más importantes que el pequeño aumento en la excreción que con este sistema se puede conseguir.

Un tercer método que ha sido ensayado para aumentar el aclaramiento de HCB ha sido la administración oral de lípidos no absorbibles como hexadecano, aceite mineral, o parafinas. Este método ha sido ensayado en distintos animales de experimentación y con él se han conseguido resultados muy importantes (48). Este tipo de productos aumentan la lipofilia del contenido intestinal y desplazan el equilibrio de concentraciones de HCB entre sangre y intestino produciendo un aumento neto de la transferencia pasiva de HCB a través de la luz intestinal con un consiguiente aumento de

la concentración de producto en las heces y una significativa reducción de los niveles de acumulación tisular.

Sin embargo aunque esta estrategia ha demostrado su efectividad en animales como rata, perro o mono rhesus su posible aplicación en el hombre presenta una serie de interrogantes difíciles de resolver. El primero de ellos es que la administración de este tipo de aceites, aun en cantidades moderadas, puede producir diarrea con todos los problemas asociados. En segundo lugar está el hecho de con este tipo de administración puede aumentarse de forma concomitante la excreción de otros productos aparte del HCB, concretamente esteroides y vitaminas liposolubles, con lo que se pueden producir indirectamente déficits vitamínicos perjudiciales para la salud. Esta posibilidad no ha sido aún suficientemente investigada y en todo caso de ella depende en buena parte la posibilidad de aplicaciones futuras de este tipo de estrategias de detoxificación.

EL TEJIDO ADIPOSO COMO INDICADOR DE LA CARGA CORPORAL.

Dadas las características toxicocinéticas del HCB es comprensible que el tejido adiposo constituya uno de los mejores indicadores de la carga corporal total del compuesto y que como tal haya sido utilizado para gran número de estudios epidemiológicos. Sin embargo las dificultades inherentes a la obtención de este tipo de matriz no siempre facilitan el que los estudios sean suficientemente representativos de la población que se desea estudiar. En la mayoría de estos estudios las muestras han sido obtenidas a partir de necropsias y en muy pocos el tejido ha sido obtenidos de intervenciones quirúrgicas o biopsias. La confección de estudios epidemiológicos de este tipo a partir de muestras de cadáveres presentan problemas inherentes que en algunos casos pueden dificultar la interpretación de los resultados. Por un lado la muestra escogida para el estudio debe ser suficientemente representativa en cuanto a número, abanico de edades, y distribución de sexos de la población a estimar. Factores como la zona geográfica de residencia, el tipo de ocupación laboral, o los hábitos de consumo de tabaco o alcohol deben tenerse en cuenta y no siempre es fácil obtener estos datos retrospectivamente. Por otro lado la concentración del tóxico en el tejido adiposo está sujeto a

una serie de variaciones importantes que dependen de cambios en el mismo tejido y que de alguna manera pueden falsear la estimación.

Procesos de adelgazamiento concomitantes a enfermedades terminales pueden causar una disminución significativa de la masa de tejido adiposo y un aumento de la concentración de HCB en el tejido que sin embargo no es representativa de un aumento de la carga corporal total. Por ello de forma ideal este tipo de determinación debería ir acompañada de una estimación indirecta de la masa total de tejido adiposo en relación con el tamaño y peso corporal y debería evitarse incluir en el grupo de muestras cualquier individuo que hubiere sufrido algún proceso de adelgazamiento previo al fallecimiento. Por otro lado hay que tener en cuenta que determinados procesos patológicos y alteraciones del metabolismo lipídico pueden igualmente introducir variaciones en la concentración del tóxico que pueden falsear la estimación. En el caso de la arterioesclerosis ha sido detectado un aumento de la concentración de HCB en relación con los valores poblacionales debido probablemente a alteraciones en el contenido lipídico del tejido adiposo.

Parte de estas diferencias pueden obviarse refiriendo la concentración de HCB en el tejido no en relación al tejido total sino en relación a los lípidos extraíbles por el procedimiento analítico lo cual es a la vez una estimación de los lípidos totales del tejido.

Sin embargo a pesar de estas dificultades el tejido adiposo sigue constituyendo junto con la leche materna el tejido de elección para la mayoría de estudios epidemiológicos sobre la contaminación por residuos organoclorados.

No sucede lo mismo con la sangre que aunque constituye un tipo de muestra mucho más fácil de obtener y con el que en teoría se podrían tener estimaciones de poblaciones normales, introduce una serie de dificultades derivadas de las características de la cinética del compuesto.

Aunque en teoría existe un equilibrio entre la concentración entre los distintos órganos y la concentración en sangre, la diferencia de concentración entre la sangre y por ejemplo el tejido adiposo son del orden de más de 100

veces, situándose la concentración en sangre en el rango de 1 a 30 partes por billón. Teniendo en cuenta al mismo tiempo las variaciones que introduce la técnica analítica en estos rangos es difícil extrapolar las pequeñas variaciones de la concentración sanguínea del tóxico a variaciones en la concentración en tejido adiposo y más allá a diferencias en la carga corporal total. A ello se añade que no se conoce en cada caso con exactitud los cocientes de concentración sangre: tejidos que es distinta para los distintos compuestos organoclorados y que está sujeta a variaciones intra e interindividuales.

Sin embargo, a pesar de todo ello, las estimaciones de HCB en sangre siguen siendo un instrumento útil para comparar poblaciones distintas, o para detectar focos de contaminación específicos de tipo local o en el ámbito laboral.

Por último cabe señalar que estas determinaciones, especialmente las que se efectúan en tejido adiposo, deben adquirir un carácter progresivamente más generalizado sobre todo en los países industrializados, abarcando cada vez grupos y áreas de población más amplios y realizándose estudios sobre una misma población a lo largo del tiempo con el objeto de obtener información sobre la evolución de los niveles de contaminación por este producto.

TECNICA ANALITICA

La técnica analítica para la determinación global de pesticidas organoclorados puede utilizarse en líneas generales para la determinación de HCB.

La técnica clásica para este tipo de análisis es la de Mills-Onley-Gaither (42,43) que ha sido modificada por la US Environmental Protection Agency para la identificación y cuantificación de HCB (41). Una variante importante lo constituye el método propuesto por Veierov & Aharonson (40).

El método consta básicamente de tres etapas: 1.- Extracción del componente lipídico de la muestra; 2.- Purificación del extracto y separación del conjunto de residuos organoclorados del componente lipídico; 3.-Análisis por cromatografía de gases con detector de captura electrónica y eventualmente por espectrometría de masas.

La primera etapa se verifica mediante homogeneización mecánica del tejido y posterior desecación con sulfato sódico anhidro. La extracción del componente lipídico se efectúa mediante disolventes apolares como hexano o éter de petróleo, generalmente utilizando extractores en continuo tipo Soxhlet. La elevada lipofilia del hexaclorobenceno garantiza el que la extracción sea prácticamente cuantitativa.

La purificación del extracto es paso previo al análisis por cromatografía dado que la presencia de lípidos en el extracto puede generar distorsiones en el cromatograma, aumento del ruido de fondo, disminución de la vida de la columna y contaminación del detector. El método oficial de la A.O.A.C. (Mills-Onely-Gaither) que se utiliza para la mayoría de pesticidas organoclorados incluye en primer lugar un sistema de partición éter de petróleo/acetoneitrilo y en segundo lugar un sistema de cromatografía en columna de Florisil con elución mediante mezcla de hexano/éter etílico.

Sin embargo aunque el sistema de partición éter de petróleo/acetoneitrilo es eficaz y la recuperación cuantitativa para gran parte de los pesticidas organoclorados, el equilibrio de reparto, en el caso del hexaclorobenceno, no está excesivamente desplazado hacia la fase de acetoneitrilo, por lo que tienden a buscarse alternativas a este método de purificación cuando se trata de cuantificar este residuo.

Otro método de purificación es mediante absorción en alúmina. La alúmina presenta una capacidad notable de absorción de lípidos, superior probablemente al florisil, y por ello ha sido también utilizado en este tipo de análisis de residuos organoclorados. El método presenta dos variantes. Por una lado puede eluirse el extracto a través de una columna de alúmina utilizando como eluyente hexano, y por otra puede utilizarse directamente la alúmina durante la maceración y homogeneización de la mezcla acetoneitrilo/agua (80:20).

Una alternativa muy importante dada su sencillez para la eliminación de los lípidos del extracto lo constituye el propuesto por Veierov & Aharonson. Este consiste en tratar el extracto de hexano que contiene el componente lipídico y los residuos organoclorados con ácido sulfúrico que se deja gotear sobre la muestra hasta la total hidrólisis y

precipitado de los lípidos. La mayoría de residuos organoclorados son resistentes a la acción química del ácido sulfúrico a excepción de los que contienen grupos epóxido en su molécula (dieldrin, endrin, heptacloro epóxido, etc.). Con este método pueden tratarse muestras de elevado volumen cuyos extractos pueden concentrarse, pudiéndose con ello determinar residuos a muy baja concentración. Aunque el método no puede utilizarse para screening general de organoclorados, constituye una excelente opción para determinar los residuos más abundantes en las muestras biológicas como PCBs, DDTs, y también hexaclorobenceno.

Otras alternativas, aunque menos utilizadas, al método Mills-Onley-Gaither, lo constituye la purificación por codestilación y la purificación por cromatografía de exclusión. Este último sistema aprovecha el hecho de que los lípidos naturales son en su mayor parte sustancias de peso y volumen superior a los residuos organoclorados y por tanto pueden separarse mediante geles lipófilos de poliestireno utilizados como fase estacionaria en un sistema de cromatografía de exclusión con eluyentes apolares. De este modo los lípidos de mayor volumen quedan menos retenidos por el gel y eluyen antes y puede separarse eficazmente de los residuos organoclorados.

La determinación por cromatografía de gases utiliza casi invariablemente el detector de captura electrónica que permite un nivel de sensibilidad y detección extraordinariamente elevado. Tradicionalmente se han utilizado las columnas empaquetadas, con fase estacionaria apolar (metil, fenil y trifluoropropil siliconas) con las cuales y mediante un programa isoterma es posible conseguir una aceptable separación de los distintos residuos organoclorados aunque no es posible evitar un solapamiento entre los PCBs y los derivados del DDT y ciclodiénicos, ni un solapamiento parcial, en muchos casos, entre HCB y alfa HCH. La introducción de los programas de separación en columna capilar (generalmente en fases apolares de silicona OV-1, V-101, SE-54, SPB-5, SPB-608, etc.) ha supuesto un avance considerable en la superación de estos problemas con una evidente mejora en la precisión de la cuantificación.

Como alternativa a la detección mediante captura electrónica puede utilizarse la espectrometría de masas. Esta técnica no permite alcanzar los niveles de detección del ECD

pero en cambio permite una identificación inequívoca de los residuos.

DIFERENTES RESULTADOS EN EL AMBITO INTERNACIONAL

La aplicación de los métodos de screening de residuos organoclorados en tejido adiposo humano se han realizado y se continúan realizando en gran número de países como forma de estimación del grado de contaminación en un área determinada. En algunos países avanzados estos estudios alcanzan una dimensión nacional y se realizan de forma periódica para conocer la evolución de este tipo de contaminación a lo largo del tiempo.

Sin embargo durante muchos años estos estudios, inexplicablemente, no incluyeron la cuantificación de HCB. No fue sino hasta mediados de la década de los 70 cuando algunos países empezaron a incorporar esta determinación a sus screenings. Actualmente la proporción de países que han cuantificado HCB en tejido adiposo de su población es variable, pero tiende a incrementarse, en la medida que el HCB empieza a ser reconocido como un problema toxicológico y ambiental de primera magnitud a nivel internacional.

En la tabla 2 se resumen los datos conocidos hasta el momento por la literatura mundial. Hay que señalar sin embargo que hay gran variabilidad en el tipo de muestras utilizadas, el número, y la técnica analítica sin que en muchos casos quede claro si se han tenido en cuenta las limitaciones que pesan sobre este tipo de estudios y que anteriormente han sido reseñadas.

Destaca de esta relación los elevados niveles referidos por algunos países europeos como la RFA y Grecia sobre todo si se compara con los niveles referidos por otros países altamente industrializados como el Reino Unido o EEUU. Esta diferencia tiende a hacer pensar que en algunas zonas ha existido o sigue existiendo una exposición definida al HCB cuyos orígenes siguen actualmente sin una explicación suficientemente satisfactoria.

RESULTADOS EN ESPAÑA

Las primeras cuantificaciones de HCB en tejido adiposo en España fueron realizados en Barcelona durante el período 1981-1982 y los resultados pusieron de manifiesto de forma sorprendente que los niveles de HCB en España eran considerablemente elevados en comparación con los niveles de otros pesticidas. El HCB aparecía como el segundo residuo en importancia cuantitativa después del pp'DDE, contaminante mayoritario del tejido adiposo a nivel mundial, y en concentraciones superiores a las de pp'DDT, PCBs, Dieldrín o cualquiera de los isómeros del HCH. El HCB en esta población se situaba en un valor (5,5 ppm) 100 veces superior al que presentaba la población de EEUU en las mismas fechas, a todas luces preocupante más si se tiene en cuenta que ello coincidía con la consideración a nivel mundial del poder carcinogénico de este producto. Por otra parte los valores obtenidos eran perfectamente equiparables a los que habían obtenido Polo Villar (63) en leches maternas de la población de Andalucía en el año 1979 y igualmente parecidos a los que se habían obtenido en tejido adiposo en la RFA. Ello sugería que España al igual que algunos países europeos podía ser el blanco de un fenómeno de consideración importante, derivado bien de la utilización de HCB como pesticida, bien de la emisión de este compuesto en forma de residuo industrial. A partir de este momento los estudios a nivel nacional se ampliaron y diversificaron incluyendo la investigación de la contaminación en leche materna, en muestras del medio ambiente, la distribución del residuo en los distintos tejidos del organismo, su concentración en sangre, y la concentración de su principal metabolito urinario, pentaclorofenol, en orina (46).

Parte de los resultados obtenidos por los distintos equipos en este campo van a ser presentados y discutidos en estas jornadas, sin embargo el hecho del origen de esta contaminación concretamente en nuestro país sigue siendo una cuestión compleja que, hasta el momento, no admite una respuesta concluyente. Para avanzar en ello disponemos de métodos indirectos como estudiar las diferencias de acumulación entre poblaciones urbanas y poblaciones rurales, comparar los niveles de HCB con los de otros contaminantes típicamente industriales como los PCBs, estudiar la posible presencia del residuo en aguas, alimentos o animales de longevidad corta.

Pero sobre todo interesa que este tipo de estudios tengan una continuidad con el objeto de valorar la evolución de estos parámetros a lo largo del tiempo y poder de ello deducir si la contaminación por HCB entendida en forma global, es un fenómeno que se mantiene estable o si por el contrario presenta evoluciones significativas.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- TOBIN P. Known and potential sources of hexachlorobenzene. En: "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication Nº 77. 3-13. 1986.
- 2.- DAVIS BD, MORGAN RC. H Hexachlorobenzene: uses and occurrence. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication Nº 77. 23-31. 1986.
- 3.- GOPALASWAMY UV, AUYAR AS. Biotransformation and toxicity of lindane and its metabolite hexachlorobenzene in mammals. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication Nº 77. pp.267-277. 1986.
- 4.- TO-FIGUERAS J, RODAMILANS M, GOMEZ J, CORBELLA J. Hexachlorobenzene residues in the general population of Barcelona (Spain). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication Nº 77. pp. 147-48. 1986.
- 5.- BURTON MAS, BENNET BG. Summary exposure assessment for hexachlorobenzene. A technical Report. Exposure commitment assessment of environmental pollutants (MARC). 1987. vol. 6. pp.1-26.
- 6.- CABRAL JRP, SHUBIK P. Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in mice and hamsters. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication Nº 77. pp. 411-416. 1986.
- 7.- VOS JG. Immunotoxicity of hexachlorobenzene. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. Nº 77. pp. 347-356. 1986.

8.- STEWART FP, MANSON MM, CABRAL JRP, SMITH AG. The porphyrogenic response in diethylnitrosamine-initiated tumours promoted by hexachlorobenzene. 1987. Human Toxicology. 6. p.434.

9.- RIPPEN G, FRANK R. Estimation of hexachlorobenzene pathways from technosphere into the environment. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. Nº 77. pp. 45-52. 1986.

10.- THOMAS W, SIMON H, RHULING A. Classification of plant species by their organic and inorganic trace pollutant concentrations. Sci. Total. Environ. 1985. 46. pp. 83-94.

11.- LASETER JL, BARTELL CK, LASKA AL, HOLMQUIST DJ, CONDIE DB, BROWN JW, EVANS RL. An ecological profile study of hexachlorobenzene. EPA-560/6-76-009 (PB 252651). 1976. Office of Toxic Substances. EPA. Washington D.C.

12.- OLIVER BG, NICOL KD. Chlorobenzenes in sediments water and selected fish from Lakes Superior, Huron, Erie, and Ontario. Environ. Sci. Technol. 1982. 16. 532-536.

13.- LASKA AL, BARTELL CK, LASETER JL. Distribution of hexachlorobenzene and hexachlorobutadiene in water, soil and selected aquatic organisms along the lower Mississippi River, Louisiana. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1976. 15. 535-542.

14.- GREVE C. Environmental and human exposure to HCB in the Netherlands. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. Nº 77. 87-97. 1986.

15.- BURNS KA, VILLENEUVE JP. Biogeochemical processes affecting the distribution and vertical transport of hydrocarbon residues in the coastal Mediterranean. Geochim. Cosmochim. Acta. 1983. 47. 995-1006.

16.- NIEWADOWSKA A, POSYNIK A. Residues of organochlorine insecticides and polychlorinated biphenyls in horses. 1983. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 1983. 26. 60-64.

- 17.- KECK G, PAUBEL P, MONRENERET RJ. Organochlorine and mercury residues in peregrine falcon eggs in France. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1982. 28. 705-709.
- 18.- FALANDYSZ J. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in herring from the southern Baltic. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 1986. 182. 224-227.
- 19.- IARC. Hexachlorobenzene. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. 20. pp. 155-178. 1979.
- 20.- FAO. Pesticides residues in food. 1986. Paper 72/21.
- 21.- WHO. Joint FAO/WHO food contamination monitoring programme. Summary of 1980-81 monitoring data received from the collaborating centers. 1983.
- 22.- CAM, C. Report on four cases of congenital porphyria. 1987. Nestor. 1987. 1. 2-6.
- 23.- CAM C. Cutaneous porphyria due to intoxication. Dirim (Istambul). 1959. 34. 11-15.
- 24.- CAM C. A new dermatitis epidemic among children. Ann. dermatol. Syphilol. 1960. 87. pp. 393-397.
- 25.- GOCMEN A, PETER HA, CRIPPS DJ, MORRIS CR, DOGRAMACI I. Porphiria turcica: hexachlorobenzene-induced porphyria. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. N° 77. pp. 567-573. 1986.
- 26.- DEBETS FMH. Contribution to the elucidation of the mechanism of hepatic porphyria induced by hexachlorobenzene and related polyhalogenated hydrocarbons. 1981. Ph. D. Thesis. University of Wageningen. pp. 99.
- 27.- de MATTEIS F, STONARD MD. Experimental porphyrias as models for human hepatic porphyrias. Semin. Hematol. 1977. 14. 187-192.
- 28.- de MATTEIS F. Experimental hepatic porphyria caused by hexachlorobenzene. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an

International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. N° 77. pp. 429-431. 1986.

29.- SMITH AG, de MATTEIS F. Drugs and the hepatic porphyrias. Clin. Haematol. 1980. 9. pp. 399-425.

30.- ELDER GH, URQUHAR AJ. Immunochemical studies of the uroporphyrinogen descarboxylase defect caused by hexachlorobenzene. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. N° 77. pp. 441-448. 1986.

31.- CABRAL JRP, SHUBICK P, MOLINER T, RAITANO F. Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. Nature. 1977. 269. 510-511.

32.- CABRAL JRP, MOLINER T, RAITANO F, SHUBICK P. Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. J. Am. Med. Assoc. 1979. 183. 88-91.

33.- SMITH AG, CABRAL JRP. Liver cell tumours in rats fed hexachlorobenzene. Cancer Lett. 1980. 11. 169-172.

34.- WADA O, YANO Y, URATA G, NAKAO K. Behavior of hepatic microsomal cytochromes after treatment of mice with drugs known to disturb porphyrin metabolism in liver. Biochem. Pharmacol. 1968. 17. 595-603.

35.- VOS JG, van der MAAS, MUSCH A, RAM E. Toxicity of hexachlorobenzene in japanese quail. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1971. 18. 944-95.

36.- SMITH AG, WRIGHT AL, CABRAL JRP. Influence of hexachlorobenzene on thyroids of male hamsters. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publicatio. N° 77. pp. 357-360. 1986.

37.- ANDREWS JE, COURTNEY KD. Hexachlorobenzene-induced renal maldevelopment in CD-1 mice and CD rats. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. N° 77. pp. 381-392. 1986.

- 38.- de MATTEIS F, PRIOR BE, RIMINGTON C. Nervous and biochemical disturbances following hexachlorobenzene intoxication. Nature. 1961. 191. 363-365.
- 39.- DEBETS F, REINDERS JH, KOSS G, SEIDEL J, STRIK A. Effects of dietary antioxidants on the biotransformation and porphyrinogenic action of hexachlorobenzene in two strains of rats. Chem-biol. Interact. 1981. 37. 77-94.
- 40.- VEIEROV D, AHARONSON N. Improved clean-up of large lipid samples for electron capture gas chromatographic quantitation and gas chromatographic-mass spectrometric confirmation of organochlorine residues. J. Assoc. Offic. Anal. Chem. 1980. 63, 202-207.
- 41.- ERIKSON MD. Evaluation of analytical methods and data for hexachlorobenzene in human adipose tissue, Draft report, Kansas City, MO, Midwest Research Institute,, Washington DC, Office of toxic substances, US Environmental Protection Agency (Contract 68-02-39-38).
- 42.- MILLS PA, ONLEY JH, GAITHER RA. Rapid method for chlorinated residues in nonfatty foods. J. Assoc. Offic. Anal Chem. 1963. 46. 18-191.
- 43.- MILLS PA. Collaborative study of certain chlorinated organic pesticides in dairy products. J. Assoc. Office. Anal. Chem. 1961.44. 172-177.
- 44.- TESSARI JD, GRIFFIN L, AARONSON MJ. Comparison of two clean-up procedures (Mills, Onley, Gaither vs Automated gel permeation) for residues of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1980. 25, 59-64.
- 45.- MORRIS & CABRAL (ed). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Lyon: IARC Scientific Publication. Nº 77. 1986.
- 46.- GOMEZ-CATALAN J, TO-FIGUERAS J, PLANAS J, RODAMILANS M, CORBELLA J. Pentachlorophenol and hexachlorobenzene in serum and urine in the population of Barcelona. Human Toxicology. 1987. 6. 397-400.

- 47.- TO-FIGUERAS J, GOMEZ-CATALAN J, RODAMILANS M, CORBELLA J. Mobilization of stored hexachlorobenzene and pp'dichloro diphenyl dichloro ethylene during partial starvation in rats. Toxicology letters (in press).
- 48.- RICHTER E. Stimulation of faecal excretion of hexachlorobenzene: a review. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". Morris & Cabral (ed). Lyon: IARC Scientific Publication. N° 77. pp. 605-610. 1986.
- 49.- LEONI V, D'INNOCENZO D, MARINELLI G, PUPI M, GIULIANI AR, FABIANI L, de BERNARDIS G. The hexachlorobenzene and the depot of chlorinated pesticides in human fat in the Abruzzo region (Italy). IG. MOD., 87, 438-451.
- 50.- ABBOT DC, COLLINS GB, GOULDING R, HODGES RA. Organochlorine pesticide residues in human fat in the United Kingdom 1976-7. Br. med. J. 1981. 283. 1425-1428.
- 51.- ABBOT DC, GOULDING R, HOMES DC, HOODLESS RA. Organochlorine pesticide residues in human fat in the United Kingdom 1982-1983. Human Toxicol, 1985. 4, 435-445.
- 52.- VAN HAVER W, VANDESANDE A, GORDTS L. Organochloor-pesticiden in het menselijk vetweefsel. Arch. Belg. Med. Soc. Hyg. Med. Travl. Med. Leg. 1978. 36, 147-155.
- 53.- IARC Hexachlorobenzene. In: IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic reisk of chemicals to humans. vol 20. Some halogenated Hydrocarbons, Lyon, International Agency for research on Cancer. pp. 155-177. 1979.
- 54.- FALANDYSZ & JANOWSKA. Hexachlorobenzene in human adipose tissue. Farm. Pol. 1982. 38, 553-556.
- 55.- MORI Y, KIKUTA M, OKINAGA E, OKURA T. Levels of PCBs and organochlorine pesticides in human adipose tissue collected in Ehime Prefecture. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1983. 30, 74-79.
- 56.- ROBINSON PE, OECZYNSKY BA, KUTZ FW, REMMERS JC. An evaluation of Hexachlorobenzene body-burden levels in the general population of the USA. "Hexachlorobenzene: Proceedings of an Interantional Symposium". Ed. C.R. Morris & J.R.P. Cabral. pp. 183-192. 1986.

- 57.- SOOS K, ARI L, BAJZATH J, KOSTYAL J.
Poliklorozóott bifeníl (PCB) tartalom vizsgálata klorozótt szénhidrogén insecticidek mellett a hazai emberi zsírvetbe. Egeszsegtudomány. 1980. 24, 385-393.
- 58.- JAN J, ZELENKO V. Chlorinated hydrocarbons (pesticides and PCBs) in adipose tissue in the population of Slovenia. Hrana Ishrana, 1978. 19, 138-142.
- 59.- DEJONCKHEERE W, STERURVAUT W, VERSTRAETEN R, KIPS RH. Residues of organochlorine pesticides in human fat in Belgium. Toxicol. Eur. Res. 1978. 2, 93-98.
- 60.- MES J, DAVIES D, TURTON D. Polychlorinated biphenyl and other chlorinated hydrocarbon residues in adipose tissue of Canadians. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1982. 28, 97-104.
- 61.- WILLIAMS DT, LEBEL GL, JUNKINS E. A comparison of organochlorine residues in human adipose tissue autopsy samples from two Ontario municipalities. J. Toxicol. Environ. Health. 1984. 13, 19-29.
- 62.- ABBOT DC, COLLINS GB, GOULDING R. Organochlorine pesticide residues in human fat in the United Kingdom 1969-71. Br. Med. J. ii, 1972. 553-556.
- 63.- JENSEN AA. Chemical contaminants in human milk. Residue Res. 1983, 89, 1-128.
- 64.- CORBELLA J, TO-FIGUERAS J, RODAMILANS M, GOMEZ J. Mobilization, redistribution and excretion of hexachlorobenzene following food restriction in rats. IARC Scientific Publication N° 77. "Hexachlorobenzene". pp. 289-295. 1986.

TABLAS

Tabla I

METABOLITOS URINARIOS DEL HEXACLOROBENZENO EN LA RATA.
(Koss, G; Reuter A; Koransky, W, 1986)

Pentaclorobenzeno

2,3,4,6 -Tetraclorofenol

2,3,5, - Tricloro - 1,4- hidroquinona

2,3,4,5 -Tetraclorofenol

Pentaclorofenol

Tetracloropirocatecol

Tetracloro-1,4- hidroquinona

2,3,4,5- Tetraclorotioanisol

Tetraclorometoxitioanisol

Pentaclorotioanisol

1,4-Metoxi-3-metilmercapto-2,5,6-triclorobenzeno

Tetracloro-1,4- ditioanisol

1-Metil- (4-metilmercapto-triclorofenil) sulfóxido.

3,5,6- Tricloro-1,2,4- tritioanisol.

1-Metil- (metoxi-tetraclorofenil) sulfóxido.

1-Metil- (4-metilmercapto-trichlorofenil) sulfona.

1-Metil- (4-metilmercapto-2,3,5,6-tetraclorofenil)sulfóxido.

1-Metil- (4-metilmercapto-2,3,5,6-tetrachlorofenil)sulfonea.

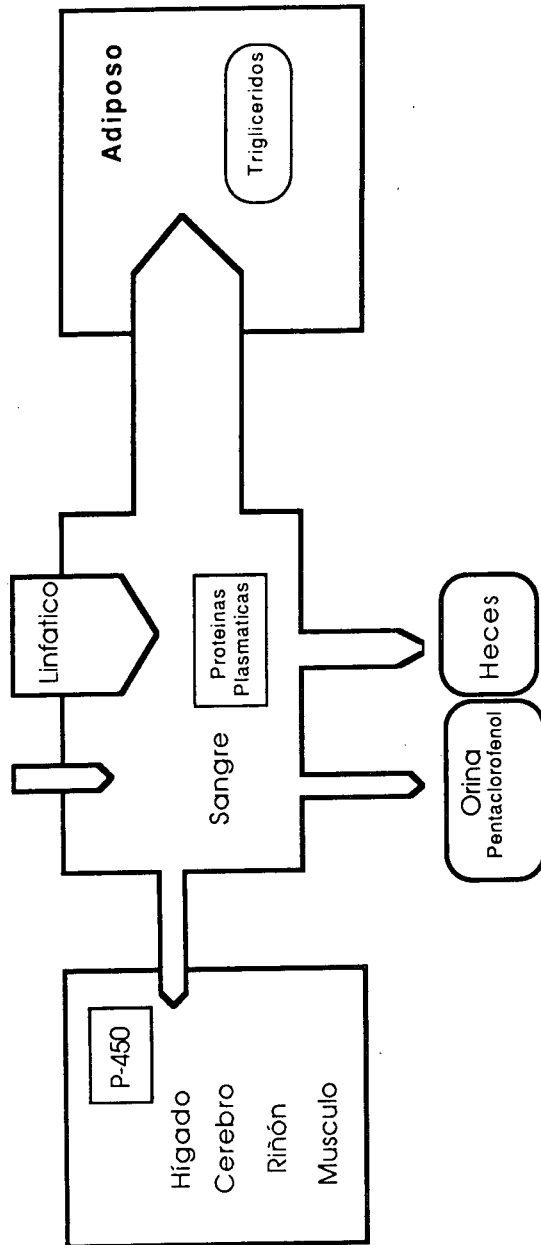
1-Metil-(bis(metilmercapto-2-3-5-6-trichlorofenil)sulfóxido.

Dimetil-((metilmercapto)-(triclorofenil)) disulfóxido.

Tabla II

Pais (referencia)	Años	Media (ppm)	Número Muestras
Canada (60)	(1976)	0.095	(99)
Canada, Kingston (61)	(1979/81)	0.078	(84)
Canada, Ottawa (61)	(1980/81)	0.106	(91)
Estados Unidos (56)	(1974-83)	0.053	(6115)
U.K. (62)	(1969/71)	0.050	(201)
U.K. (50)	(1976/77)	0.190	(236)
U.K. (51)	(1982/83)	0.110	(187)
Polónia (54)	(1979)	0.330	(53)
Japón (55)	(1981)	0.070	(92)
Bélgica (59)	(1975)	1.360	(60)
Bélgica (52)	(1977)	0.97	(73)
Hungría (57)	(1979)	0.27	(46)
Yugoslavia (58)	(1976)	0.11	(45)
Nueva Zelanda (50)	(1973)	0.312	(51)
Suíza (50)	(1971/72)	1.900	(12)
R.F.A. (50)	(1981)	5.670	(282)
Grecia (50)	(1981)	3.842	(50)
España, Barcelona (4)	(1981)	5.523	(55)
Italia (53)	(1979)	0.491	
Italia, Abruzzo (49)	(1987)	1.986	(22)

Figura I



COMPUESTOS ORGANOCLORADOS EN LECHE HUMANA

C. CONDE.

Hospital Universitario San Carlos. Madrid.

CONTAMINANTES ORGANOCLORADOS EN LECHE HUMANA.

Casi todos los compuestos químicos ingeridos o absorbidos por la madre se encuentran en su leche de una u otra forma. El alcohol, el tabaco y las drogas, constituyen tóxicos sociales contra los que se puede luchar mediante la persuasión individual y social. Los tóxicos ambientales exigen una labor concertada de la sociedad y de las autoridades para su erradicación. Se sabe desde hace más de treinta años que la leche humana contiene contaminantes ecológicos en concentraciones muy superiores a las halladas en la leche de vaca.

Son muy conocidos los argumentos a favor de la lactancia natural: la toma directa del pecho, su perfecta adaptación al sistema nutricional todavía inmaduro del recién nacido, su contenido en protectores tales como lisozima, lactoferrina, ácido neuramínico e inmunoglobulinas que protegen de infecciones a un organismo con un sistema de defensas sólo parcialmente desarrollado, y la creación de una relación emocional positiva entre madre e hijo. Existe literatura muy reciente sobre la situación de la lactancia natural en España, su promoción, su frecuencia y factores que influyen sobre la duración de la misma (1), (2).

Al mismo tiempo que se han demostrado los beneficios de la lactancia natural se ha descubierto el peligro potencial resultante de la contaminación de la leche humana. Esto crea una situación que debe ser tratada muy prudentemente y que

debe conocer el neonatólogo al informar a la madre sobre la lactancia natural.

Los contaminantes organoclorados presentes en la leche son: Los pesticidas organoclorados, el hexaclorobenceno (HCB) y los bifenilos policlorados (PCB,s).

Estos compuestos están caracterizados por su alta liposolubilidad y su persistencia ambiental y metabólica, que favorecen su acumulación en el organismo. Existe una biomagnificación a lo largo de la cadena trófica de los alimentos y como los seres humanos están a la cabeza de dicha cadena, la grasa de la leche paralelamente a la del tejido adiposo, tiene multiplicado el contenido en compuestos organoclorados con respecto a la leche de vaca. El bajo nivel de contaminantes en la leche de vaca se explica también por su continua movilización desde la grasa en su continua producción de leche. En casos de exposición masiva a un contaminante, como ocurre en accidentes o en situaciones especiales ocupacionales, el grado de contaminación de la leche por el mismo depende principalmente de su liposolubilidad. En condiciones habituales, la concentración en leche humana, como en tejido adiposo, refleja la situación ambiental en la zona estudiada. Los compuestos organoclorados se absorben fácilmente del tracto intestinal y se acumulan en el tejido adiposo, liberandose a la sangre para excretarse con la leche durante la lactancia. El paso de cada contaminante a la leche depende de factores tales como el flujo sanguíneo, la permeabilidad capilar y sobre todo su liposolubilidad, la cual no solamente facilita el transporte a través de las membranas celulares, sino que favorece la acumulación en los compartimientos del cuerpo con mayor contenido graso. Como la leche tiene una concentración relativamente alta de grasa, ofrece un lugar de almacenamiento preferente.

Se sabe de la toxicidad aguda de cada uno de los compuestos organoclorados por accidentes ocasionales y por experimentación, pero se conoce mal su toxicidad crónica. Se ha establecido sobre la rata la "dosis sin efecto", es decir, aquella dosis que administrada de una manera continuada no produce ninguna reacción en el animal. Como la extrapolación al ser humano es discutible, se ha multiplicado la dosis por cien para crear un índice de "cantidad diaria aceptable", ADI en inglés, establecido por FAO y WHO, y expresado en

mg/kg/día. Este índice se tuvo en cuenta para determinar la máxima concentración permisible en los alimentos, entre ellos la leche. La madre ofrece en la mayoría de los casos una cantidad que está muy por encima del ADI. Hoy en día es imposible valorar la eventual acción tóxica de los compuestos organoclorados sobre el organismo del lactante, el cual tiene unas condiciones de riesgo motivadas por la inmadurez de su sistema enzimático así como por el hecho de que al disponer de menos tejido adiposo, una mayor cantidad de contaminante permanece en la sangre y penetra la barrera hematoencefálica todavía no bien desarrollada. La posible intoxicación crónica por compuestos organoclorados no se ha podido demostrar directamente sobre el organismo humano. No se sabe si la cantidad que el niño recibe de la madre es capaz de producir una inducción enzimática con sus posibles consecuencias a largo plazo, ni si la multiplicidad de sustancias extrañas simultáneamente presentes en la leche de mujer pueden desarrollar acciones antagónicas o sinérgicas.

La primera noticia sobre la presencia de compuestos organoclorados en leche humana data de 1950 (3) año en que se encontró una considerable cantidad de DDT en leche de mujeres negras, sanas en Norteamérica. Desde 1960 se viene describiendo la presencia de PCB's como contaminante en la mayoría de las muestras de leche.

Hasta ahora los pesticidas organoclorados más frecuentemente encontrados en leche humana son; lindano (gamma HCH), beta HCH, pp'DDE, pp'DDD y pp'DDT. Ocasionalmente se hallan otros, como heptachlor y su epóxido, aldrin, dieldrin y endrin. Son compuestos manufacturados para su uso en agricultura y actualmente prohibidos por la legislación internacional. Por lo tanto su concentración en muestras biológicas ha descendido a lo largo de los años, quedando un residuo todavía considerable de pp'DDE, el más estable de los metabolitos del DDT. Constituye todavía un problema el lindano, que sigue en uso en algunos países, uno de ellos España.

El HCB y los PCB's en su calidad de contaminantes industriales, tienen aspectos epidemiológicos comunes y su estudio es de un enorme interés en la actualidad.

La cuantificación de un contaminante en leche humana puede tener dos finalidades. La primera, de orden nutricional, es obtener información sobre la cantidad

absoluta del compuesto ofrecido al lactante. Dado que el niño consume aproximadamente 130gr de leche/kg/día, y que la leche tiene aproximadamente 3,5% de grasa, la ingesta diaria del contaminante, expresada en mmg/g de grasa (ppm), se obtiene multiplicando la cantidad hallada en la muestra estudiada, por 4,5 (130 x 3,5). No se puede utilizar para el cálculo el valor real de la grasa en la muestra dadas sus fluctuaciones durante el día e incluso en una misma toma. El cálculo puede ser exacto si se estudia un banco de leche.

Sin embargo, más frecuentemente se busca una monitorización biológica, con un material, la leche, fácil de obtener y de manipular, aunque la información obtenida queda circunscrita a la mujer en edad de procrear, por lo cual para cálculos longitudinales es necesario el uso de tejido adiposo obtenido en necropsias o en intervenciones quirúrgicas. Ambos materiales muestran valores paralelos, no ocurriendo así con la sangre, que actúa como vehículo, y al ser el flujo sanguíneo del pecho más rápido que la secreción de la leche, la concentración de contaminantes liposolubles es mayor en esta última. Un programa de monitorización utilizando leche humana ofrece un medio excelente para el estudio de contaminación por agentes liposolubles entre distintos países o entre distintas áreas de un mismo país.

La concentración de un compuesto organoclorado en el tejido adiposo es el resultado de una penetración continuada mediante la alimentación. El adulto presenta valores más altos que el niño, y los mantiene durante años, hasta que se produce una nueva subida con el envejecimiento, de modo que la concentración en la leche de mujer dentro de una zona es expresión de la situación de dicha zona con respecto al contaminante estudiado. El tipo de alimentación durante la lactancia no tiene influencia sobre la concentración del mismo. Se supone que la madre no debe reducir su peso con curas de adelgazamiento, pues es de esperar que con la disminución del depósito de grasa, con conservación del contaminante, se produzca un enriquecimiento del mismo en la grasa restante y por lo tanto en la leche.

La población estudiada debe estar formada por un grupo de no menos de 50 muestras de cada área, excluyendo mujeres que no hayan vivido en la zona más de 8 años antes de la recogida. Se deben recoger muestras de una fecha determinada,

generalmente el primer mes, con una uniformidad en cuanto al momento de la toma y modo de recogida.

La presencia de un contaminante en el tejido adiposo del lactante es consecuencia de su paso a través de la placenta primero, y mediante la leche después. La placenta funciona en parte como medio de transferencia y en parte como barrera. En la leche humana, lo mismo que en el tejido adiposo, los tres mayores contaminantes son, por este orden, los PCB's, el pp'DDE y el HCB.

Niessen, en la República Federal Alemana (4), estudió pesticidas organoclorados, HCB y PCB's en tejido adiposo de 50 niños, de los cuales 34 eran lactantes y el resto de hasta dos años de edad. Se refiere principalmente a los PCB, y al HCB como contaminantes típicos de países industrializados, los cuales se encuentran en considerables proporciones en Alemania Federal. Estos compuestos presentaban concentraciones menores que las del adulto alemán pero mayores que las de los adultos de otros países. Es sabido que los niños tienen menor proporción de contaminantes que los adultos. El autor dividió sus muestras en dos grupos, según el tiempo transcurrido entre la interrupción de la lactancia y el momento de la toma de tejido, y dentro de cada grupo estableció otros dos subgrupos según la cantidad absoluta de leche materna que habían recibido. El autor halló concentraciones significativamente más altas en los niños estudiados en el momento más cercano a la lactancia, y dentro de cada grupo, en los que habían recibido leche materna. La conclusión es que el niño recibe al menos una importante proporción de los compuestos con la leche de su madre. Al no haber entre los casos estudiados muestras de niños recién nacidos, no se puede saber en que medida participa la placenta en el paso de organoclorados al niño.

Los PCB's, por su complejidad molecular, ofrecen un buen campo de estudio de transferencia placentaria. Mess (5) demostró la transferencia de PCB's por la placenta, Ando (6) ha estudiado los PCB's en sangre de la madre, cordón y leche, y aplicó una técnica de espectrometría de masas que le permitió medir exactamente la proporción de los isómeros y halló que existe una correlación entre los valores en sangre materna, leche y placenta, tanto más significativa cuanto mayor es la proporción de cloro. La relación era más ostensible para los hexaclorobifenilos. No existía

correlación significativa entre estos valores y los hallados en sangre del cordón. El autor deduce de sus resultados que la concentración de PCB's en la placenta es un indicador de la contaminación de la madre y que la transferencia al feto es diferente según la mayor o menor cloración.

Es necesario seguir en esta línea de trabajo para saber en que proporción los PCB's del niño proceden de la transferencia placentaria o de la leche de la madre. La importancia práctica de este dato es clara, pues si bien no se pueden establecer normas restrictivas para la lactancia natural mientras no se demuestre que existe toxicidad crónica, es desde luego inquietante la alta concentración de ciertos contaminantes organoclorados, y un factor a tener en cuenta sería el conocimiento exacto de la proporción de contaminante transmitido por la leche.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- MARTIN-CALAMA J, VILLAR A, ORIVE I, PRIETO M.J, CONDE F, SANCHEZ-VILLARES E. Tendencias actuales de la lactancia materna en Valladolid. An. Esp. Pediatr. 1985, 22, 371-377.
- 2.- MARTIN-CALAMA J, ASARES I, RODRIGUEZ P, ORIVE I. El cambio de conducta en el amamantamiento a nivel mundial. An. Esp. Pediatr. 1986, 25, 39-44.
- 3.- LAUG EP, KUNZE FM, PRICKETT CS. Occurrence of DDT in Human fat and milk. Arch. Ind. Hyg. 1951, 3: 245-250.
- 4.- NIESSEN KH, RAMOLLA J, BINDER M, BRÜGMAN G, HOFMAN U. Chlorinated hydrocarbons in adipose tissue of infants and toddlers: inventory and studies on their association with intake of mothers' milk. Eur. J. Pediatr. 1984, 142: 238-243.
- 5.- MESS J, DOYLE JA, ADAMS BR, DAVIES DJ, TURTON D. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in milk and blood of Canadian women during lactation. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1984. 13: 217-223.
- 6.- ANDO M, SAITO H, WAKISAKA I. Transfer of polychlorinated biphenyls (PCB's) to newborn infants through the placenta and mothers milk. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1985, 14:51-57.

**EMISSION OF ORGANOCHLORINE COMPOUNDS FROM AN ALUMINIUM
REMELTING PLANT.**

L. MANSSON, A. SELDEN

Department of Occupational Medicine, Orebro Medical Center
Hospital, S-701 85 Orebro, Sweden.

INTRODUCTION

This investigation was prompted by concerns regarding the possible formation of organochlorine compounds, especially chlorinated dioxins, in the process of aluminium remelting involving used and reclaimed beverage cans. The plant was located in southeastern Sweden.

MATERIAL AND METHODS

Three different types of furnaces were investigated: 1. A delacquering furnace, where residues of beer, soft drinks, paint, PVC-plastic and other organic materials were removed from batches of beverage cans by circulating flue gases at a charge temperature of 380°C; 2. A melting furnace, where delacquered cans were mixed with rolling mill and can production scrap and molten at a final temperature of 705°C; 3. A holding furnace, where the molten aluminium was kept at a temperature of about 700°C before casting.

The emission from the delacquering and melting furnaces, respectively, was determined in air samples obtained in the stack distal to the gas cleaning equipment. The emission from the holding furnace was determined by

sampling in the exhaust duct near the furnace during degassing with hexachloroethane (HCE), a routine procedure to reduce the hydrogen content of the charge and to obtain a flux of metal oxides to the surface. The samples were filtered, cooled and adsorbed on XAD-2 tubes, respectively. Glassware sampling equipment was used throughout. Analyses were carried out with high resolution gas chromatography-mass spectrometry.

RESULTS

The table shows the results of the emission measurements. Estimates of the corresponding annual emissions were also calculated.

Di- and trichlorobenzenes dominated the chlorobenzene emissions from the delacquering furnace, whereas hexachlorobenzene (HCB) constituted 96% of the chlorobenzene emissions from the holding furnace during the degassing with HCE. The distribution of the different chlorophenols was similar: di- and trichlorophenols dominated at the delacquering and melting furnaces in contrast to the preponderance of tetra- and pentachlorophenols at the holding furnace during degassing. The chlorinated dioxins and dibenzofurans from the holding furnace were not possible to analyze due to the substantial chlorobenzene content in the sample.

CONCLUSIONS

The presence of chlorinated organic matter in aluminium remelting and secondary aluminium smelting plants may cause a significant emission of organochlorine compounds. HCE, an additive to the process, seems to be a major source of HCB formation. These findings may have relevance with regard to biological effects in both the general and the working environment.

Furnace Type

Organochlorine compounds	Delacquering	Melting	Holding
<hr/>			
Total chlorobenzenes			
mg/hour	1,490	120	229,000
g/ton HCE	-	-	5,200
g/year	9,360	860	18,000*
Total chlorophenols			
mg/hour	208	52	115
g/ton HCE	-	-	2.6
g/year	1,300	370	9*
Total TCDD- equivalents			
ng/hour	0.3	<0.001	- **
g/ton HCE	-	-	-
g/year	1.9	<0.01	-

* Estimate based on a consumption of 3.5 tons of HCE/year

** Analysis not possible.

**DISTRIBUCION DE HEXACLOROBENCENO ENTRE EL MATERIAL DISUELTO Y
PARTICULADO DE LAS AGUAS DEL DELTA DEL EBRO.**

J.I. GOMEZ-BELINCHON, R. LLOP, J.O. GRIMALT, J. ALBAIGES

Departamento de Química Ambiental (CID-CSIC). Barcelona.

RESUMEN

En el presente trabajo, se han comparado tres métodos diferentes para el análisis de hexaclorobenceno (HCB) en aguas naturales: extracción líquido-líquido, adsorción sobre espumas de poliuretano y adsorción sobre Amberlita XAD-2. De acuerdo con los resultados obtenidos se ha seleccionado la Amberlita XAD-2 para el estudio de la distribución de este compuesto en las aguas del Delta del Ebro. Se han recogido 100 L de agua por cada muestra, a una velocidad de flujo de 500 mL/min (5 volúmenes de lecho/min), siendo el límite de detección inferior a 0,5 pg/L.

El estudio realizado muestra que el río es la fuente principal de HCB en el medio costero, aunque los niveles de concentración son inferiores a los que se han determinado en otras áreas fluviales donde se producen importantes aportes industriales. En este sentido, se ha observado que el HCB está asociado preferentemente a la fase particulada, especialmente en las muestras de mayor concentración. Por tanto, los procesos de sedimentación constituyen un aspecto determinante en la distribución de este contaminante en aguas costeras.

INTRODUCCION

El hexaclorobenceno (HCB) es un contaminante de importancia prioritaria (1) por su toxicidad (2) y su capacidad de bioconcentración (p. ej. en plantas (3) y peces (4)). Comúnmente se ha utilizado como fungicida en el tratamiento de semillas aunque desde hace algunos años este tipo de aplicación ha sido restringida o prohibida en muchos países. Sin embargo, el HCB se encuentra todavía como subproducto o impureza en varios productos clorados industriales y en residuos (5) y se produce en muchos procesos de combustión (6,7). Tal diversidad de fuentes determina que la presencia ambiental de este compuesto sea compleja y difusa estando asociada tanto a flujos de agua como a precipitaciones atmosféricas (8,9,10). Además, su estabilidad química y su inercia a la fotodescomposición y degradación biológica (11) contribuye a que el HCB continúe siendo ubicuo incluso en la situación actual de producción reducida.

En este sentido, se ha encontrado HCB en sedimentos, aguas y organismos planctónicos del Mar Mediterráneo occidental (12) y se han recogido datos sobre aportes a través de deposición seca y húmeda (9) pero no hay información sobre aportes asociados a sistemas fluviales. Sin embargo, se ha observado que el transporte fluvial juega un papel fundamental en la descarga de este compuesto en otras áreas, como en el Mar del Norte (13), y ocurre que una de las plantas europeas más importantes en la producción de HCB en los finales de los 70 y principios de los 80 (una media de 150.000 Kg por año (14)) está localizada en la costa occidental del Mediterráneo, a unos 100 Km aguas arriba de la boca del Río Ebro. En consecuencia, el estudio de la distribución del HCB en aguas del Delta del Ebro constituye un aspecto muy relevante para el establecimiento del balance de masa de este compuesto clorado en la cuenca del Mediterráneo occidental. Además, el conocimiento de los procesos de partición de este compuesto entre la fase disuelta y particulada puede contribuir a una mejor comprensión general del transporte y destino final de estas especies cloradas en aguas costeras.

A este fin se necesita una evaluación previa del método utilizado para la extracción y concentración de HCB en agua. Ello constituye, de hecho, una necesidad general en el

estudio de la mayoría de las especies cloradas (15) pero en el caso del HCB es especialmente importante dados los altos límites de detección que se indican en los trabajos publicados hasta el momento presente. En general, el funcionamiento de los métodos de extracción y análisis de compuestos hidrofóbicos se ha estudiado a partir de pruebas con agua destilada, desionizada o del grifo (16-19), siendo matrices completamente diferentes a las de las aguas naturales. En este sentido, se han observado significativas pérdidas en los experimentos de recuperación de policlorobifenilos con Amberlita XAD-2 al analizar aguas con un elevado contenido de materia orgánica (20).

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, este artículo se compone de dos partes. La primera incluye una evaluación del método seleccionado para el análisis, filtración y adsorción sobre Amberlita XAD-2, que se realiza por comparación con otros métodos utilizados comúnmente (adsorción sobre espumas de poliuretano y extracción líquido-líquido). La segunda consiste en el estudio de una serie de muestras de agua recogidas en siete estaciones del Delta del Ebro a lo largo de 18 meses.

MATERIAL Y METODOS

El sistema de muestreo se describe detalladamente en otra publicación (21). Está compuesto de un circuito primario, una bomba impulsora (Teflon Fluorocarbon Corp.) y un portafiltros (de acero inoxidable y de 142 mm d.) y un sistema de cañerías capaz de formar varias combinaciones de columnas de poliuretano y de XAD-2, bien en serie o en paralelo. También puede acoplarse un circuito de unidades de extracción líquido-líquido. Primero el agua atraviesa un filtro de fibra de vidrio (de 0,5 μ m de luz de poro). A continuación la materia orgánica disuelta se separa mediante uno de estos procesos: a.- adsorción sobre poliuretano en columnas de Teflon siguiendo el modelo utilizado por de Lappe et al. (15); b.- adsorción sobre Amberlita XAD-2, utilizando cilindros de vidrio rellenos con 74 gramos de resina tal como indica Ehrhardt (23); c.- extracción líquido-líquido, utilizando un circuito de dos unidades de extracción siguiendo el diseño de Ahnoff y Josefsson (22). Las velocidades de flujo y los volúmenes de agua filtrados son registrados mediante medidores de flujo de turbina y

totalizadores. Todas las conexiones se realizaron con tubo de Teflon externamente protegido con acero inoxidable.

Los filtros se cambiaron cada vez que el flujo bajaba del 50% del valor establecido. Tras el muestreo las columnas de poliuretano se guardaron a 4°C en la oscuridad y se analizaron antes de 24 horas. Las columnas se extrajeron con 500 mL de acetona, seguidas de 500 mL de n-hexano. Estos volúmenes se redujeron mediante rotavapor, se mezclaron y se les añadió, en un embudo de decantación de 2L, 700mL de agua Mili-Q para separar la acetona del hexano; los compuestos orgánicos se separaron en la capa de n-hexano. Todos los extractos de n-hexano se mezclaron y se concentraron a 1mL antes de continuar el protocolo analítico.

Las columnas de Amberlita XAD-2 también se guardaron a 4°C en la oscuridad. Antes de 24 horas se extrajeron con 220 mL de acetona (9:1) durante 4 horas mediante un aparato de percolación continua descrito por Ehrhardt (23). La solución se concentró mediante vacío hasta un volumen de unos 50 mL al que se le añadió cloruro sódico hasta saturación. Los compuestos orgánicos se extrajeron de esta mezcla con n-hexano (3x30 mL) que se concentró al vacío hasta 1 mL.

Todos los volúmenes de ciclohexano utilizado en los extractores líquido-líquido (250 mL por unidad) se decantaron y mezclaron. Se realizó un enjuague del sistema con 100 mL más de ciclohexano y, finalmente, se mezclaron todos los extractos y se concentraron al vacío hasta 1 mL.

Los filtros se cortaron en trozos de 1 cm² con tijeras de acero inoxidable y se colocaron en balones de 250 mL. Se extrajeron en Soxhlet durante 36 horas con 150 mL de metanol-cloruro de metileno (1:2). El extracto se concentró a 1 mL antes de proceder al análisis.

Todos estos extractos se hidrolizaron durante 12 horas con 35 mL de KOH/MeOH al 6% y la fracción neutra se extrajo con n-hexano (3x30 mL). El HCB se separó mediante cromatografía de columna (elución con n-hexano en una columna de sílica y alúmina desactivada al 5%) de acuerdo con un método establecido previamente (24). La fracción correspondiente se concentró al vacío casi hasta sequedad (entre 50 y 300 mL) antes del análisis instrumental.

El análisis por cromatografía de gases se realizó con un aparato Carlo Erba FTV, serie 4130, equipado con un inyector splitless y un detector de captura de electrones. Se utilizó una columna SE-54 de 25 m x 0,25 mm i.d. de un espesor de fase de 0,15 μ m. El gas portador fue hidrógeno (50 cm/s). El programa de temperatura fue de 60 a 290 grados centígrados con una velocidad de 6°C/min. Las temperaturas del detector y del inyector fueron de 300 grados. La inyección se realizó por el sistema splitless y disolvente iso octano; método de aguja caliente, manteniendo la válvula cerrada durante 35 segundos. En la preparación de los patrones para la cuantificación se utilizó HCB de 99% de pureza (Aldrich, ref. 17105-0).

RESULTADOS Y DISCUSION

Selección del método de muestreo.

Para investigar las condiciones más adecuadas en la toma de muestra de HCB se bombearon volúmenes de 4000 L de agua directamente desde el mar hasta depósitos presentes en el laboratorio. Tras unos días de almacenaje se utilizó el aparato de muestreo para la extracción de la materia orgánica mediante adsorción sobre espuma de poliuretano, Amberlita XAD-2 y extracción líquido-líquido (21). Estos experimentos permitieron intercomparar los métodos de extracción en diferentes condiciones de muestreo (velocidad de flujo, volumen de muestra, etc.) a partir de muestras homogéneas de aguas naturales.

En la Tabla 1 se resumen las condiciones de muestreo de los experimentos, así como las concentraciones de HCB encontradas. En cada test, todas las muestras que presentan el mismo código numérico se obtuvieron en paralelo. En el primer experimento se probaron la Amberlita XAD-2 y las espumas de poliuretano a diferentes velocidades de flujo y volúmenes de agua. En el segundo sólo se evaluó la influencia del flujo y el tercero se concentró en el estudio de los efectos que produce la variación del volumen de muestra. En todos los casos las condiciones de muestreo se eligieron dentro del rango que ya había sido recomendado para grandes volúmenes de agua. Así, para la resina Amberlita XAD-2 la velocidad de flujo oscilaba entre 2,5-8 volúmenes de lecho

por minuto y los volúmenes de muestra entre 100 y 1000L de acuerdo con las indicaciones de Ehrhardt (23) y Harvey (25). De la misma manera, las velocidades y volúmenes elegidos para las columnas de poliuretano son comparables con los utilizados por de Lappe et al. (15) (100 mL/min, 1000L). Como método de referencia se eligió la extracción líquido-líquido en paralelo y, atendiendo a la bibliografía (15,22), se seleccionó para cada muestreo una velocidad de flujo de 100 mL/min y un volumen de 50 L.

La buena reproducibilidad obtenida para las muestras L-1, L-2 y L-3 en el primer test (Tabla 1) confirma la composición homogénea de los grandes volúmenes de agua utilizados en cada experimento. Estos resultados están de acuerdo con los correspondientes a otros métodos, pero también se producen algunas discrepancias.

En el primer experimento la muestras A-3 y P-3 presentan concentraciones inferiores al resto, y en el tercer experimento las muestras A-2 y P-2 también tienen niveles inferiores a los de la A-1 y P-1. Estas diferencias no pueden atribuirse al uso de diferentes flujos ya que en el tercer experimento se utilizaron valores similares para la Amberlita (550 mL/min = 5,5 volúmenes de lecho/min) y para el poliuretano (1030 mL/min). A pesar de ello la concentración de HCB en A-1 y P-1 es, aproximadamente, 2 ó 3 veces superior que en A-2 y P-2, respectivamente. Además, en el segundo experimento se utilizaron diferentes velocidades de flujo y la misma cantidad de agua para los dos adsorbentes, obteniéndose valores cuantitativos similares.

En el análisis de volúmenes de agua superiores a 200 ó 300 L se observa una disminución en la concentración de HCB. Ello indica que para estos volúmenes se excede la capacidad de las columnas de adsorbentes. Este fenómeno es independiente de la concentración de HCB en el agua, tal como se observa en los resultados del primer y del tercer experimento, donde en uno de ellos la concentración de HCB es 20 veces superior a la del otro. El aumento de la concentración de sustancias orgánicas disueltas de la muestra puede originar la saturación de los puntos de adsorción del HCB, lo que impide la acumulación de posteriores cantidades de este compuesto. En algunos casos, la adsorción progresiva de macromoléculas orgánicas puede incluso producir la desorción del HCB de la resina. Esta es una consecuencia del

aumento de entropía que se produce cuando la interacción hidrofóbica entre la resina y el material adsorbido se extiende a todos los puntos posibles de interacción (21).

La consideración de estos resultados, así como otros aspectos como la operatividad del sistema en el campo, nos han inducido a seleccionar a la Amberlita XAD-2 para el presente estudio. Recogiendo muestras de unos 100 L, a una velocidad de flujo de 500 mL/min (5 volúmenes de lecho/min), se obtiene un límite de detección para el HCB por debajo de 0,5 pg/L y unos resultados comparables a los obtenidos mediante otros métodos.

Estudio del Delta.

El río Ebro representa la tercera contribución fluvial que recibe el Mar Mediterráneo, con un caudal anual medio de 20 Km³. El delta del Ebro (Figura 1) cubre un área de 350 Km² y está dedicado a la agricultura, principalmente al cultivo de arroz. Se ha construido un complejo sistema de canales que permite que toda la zona sea de regadío. Estos sistemas de regadío y drenaje provocan que, entre los meses de Marzo y Noviembre (cuando los canales están abiertos), importantes cantidades de agua dulce afluyan en las bahías formadas por los lóbulos del Delta. Durante estos períodos las bahías actúan como estuarios (26), con una situación predominante de estratificación en la que el agua salada penetra a lo largo del fondo y las de aguas de baja salinidad fluyen hacia el exterior por la superficie.

En este contexto y de acuerdo con nuestra previa experiencia en el área (27-29), se seleccionaron siete estaciones de muestreo para nuestro estudio. Estas incluyen (ver Fig. 1) la corriente principal del río, un canal de riego adyacente, un canal de drenaje que desemboca en la Bahía de los Alfaques y las dos bahías, donde se recogieron muestras de aguas superficiales y de profundidad (3 metros) para el estudio de la columna de agua estratificada. Se muestreó la zona cada dos meses durante un año y medio. Esto representa una población de 92 muestras (46 del material disuelto y 46 del particulado) que comprenden aguas dulces, marinas y salobres. Los resultados correspondientes a estas muestras se recogen en la Tabla 2.

Los niveles base de HCB que se han determinado para aguas naturales son del orden de 1 ng/L (30) o de 20 pg/L (31), que corresponden a los límites de detección de los métodos analíticos utilizables (30). El método que se describe aquí es capaz de medir concentraciones por debajo de 0,5 pg/L lo cual permite, obviamente, un mejor discernimiento de la distribución de este compuesto en el sistema acuático, particularmente en aguas marinas. De acuerdo con ello, se puede observar que la concentración media en la fracción disuelta de las aguas del canal de drenaje (20 pg/L), es significativamente superior que las de las bahías (1-4 pg/L). Es interesante destacar que estos valores son del mismo orden que los que previamente se determinaron en aguas muestreadas frente a Barcelona (0,9-4,3 pg/L) (Tabla 1), lo cual parece indicar que representan el nivel de base para esta zona costera. En este sentido, se puede mencionar que las concentraciones de HCB disuelto en muestras recogidas frente a la boca del río Ródano son del orden de 10 pg/L (12). Sin embargo, en algunas áreas contaminadas las concentraciones de HCB alcanzan valores de 8-60 ng/L (Frierfjord, Noruega (30)) y de 9-20 ng/L (German Bight, Mar del Norte (13)).

Sin embargo, estos estudios no han abordado la distribución del HCB entre las fases disuelta y particulada. En este sentido, los resultados de la Tabla 2 muestran que los niveles de este compuesto son habitualmente superiores en la fase particulada que en la disuelta. Las diferencias son especialmente significativas en las muestras que presentan valores más altos, sugiriendo que cuanto más HCB hay presente en el medio mayor es la cantidad en un rango de concentraciones muy inferior a la solubilidad que presenta el HCB en agua (6 ng/L (32)) y está de acuerdo con los experimentos de simulación realizados en el laboratorio por Wilker y Wirth (33) y Ekelund et al. (34). En estos experimentos se observó que los coeficientes de distribución de HCB entre la materia orgánica disuelta y particulada son tales que entre el 80 y el 95% de la concentración de este compuesto permanece ligada a las partículas en aguas naturales.

Por otra parte, los resultados que se recogen en la Tabla 2 indican que las concentraciones más altas de HCB se encuentran en las estaciones correspondientes al río y al canal de riego, poniendo de manifiesto que el HCB se introduce en el sistema deltaico a través de las aguas del

río. En este sentido, se debe destacar que las aguas de la estación 6 son las mismas que las del río, ya que provienen de una desviación de su cauce localizada 50 Km aguas arriba de la desembocadura. Las concentraciones medias del canal de drenaje y de las bahías son inferiores a las de las estaciones 5 ó 6 en más de un orden de magnitud. Los efectos de la dilución pueden contribuir a la explicación de este fenómeno, pero la importante disminución observada en el canal de drenaje sugiere que la mayoría del HCB queda retenido en los campos de arroz de la planicie deltaica. La preferencia del HCB para asociarse al material particulado determina su tendencia a sedimentar durante el transporte y su posterior incorporación al suelo desde donde puede ser acumulado por las plantas en crecimiento (3).

A pesar de los bajos niveles determinados en las bahías, no se debe concluir que éstas están libres de contaminación. En un estudio previo (27) observamos la presencia de este compuesto en organismos bivalvos (6-11 ng/L) recogidos cerca de las estaciones 1 y 3. De hecho, las concentraciones medias de HCB en las muestras recogidas cuando los canales de riego son operativos, entre marzo y noviembre, (Fangar: 4,5 (D) y 27 (P) pg/L; Alfaques: 2,4 (D) y 26 (P) pg/L) son entre 2 y 5 veces superiores a las correspondientes al período en el que los canales están cerrados (Fangar: 1,6 (D) y 5,3 (P) pg/L; Alfaques: <0,5 (D) y 14 (P) pg/L). Por otro lado, no se ha observado ninguna distribución vertical de HCB que refleje las diferentes masas de agua que confluyen en las bahías cuando los canales están abiertos. Ello puede ser debido a la asociación predominante de este compuesto al material particulado. La deposición de las partículas puede constituir un mecanismo importante mediante el que se consiga la homogeneización de la concentración de HCB en la columna de agua a pesar de que permanezca su estratificación.

Las altas concentraciones de HCB en las aguas del río son indicativas de la importancia del río Ebro en la introducción de este compuesto en el sistema marino. Sin embargo, debido a la tendencia a asociarse al material particulado parece probable que el HCB se incorpore principalmente a los sedimentos costeros en lugar de ser transportado a largas distancias. En estudios previos realizados con muestras de agua marina recogidas frente a la desembocadura del río Ródano no se detectó HCB en el material

particulado (12). Ello puede ser reflejo de la pérdida del material terrestre que compone la fracción particulada de las aguas analizadas. Es decir, la mayoría del HCB transportado por el río ya se ha depositado sobre la plataforma marina mediante sedimentación en la zona de mezcla de aguas.

CONCLUSIONES

Se ha desarrollado un sistema de muestreo para el análisis de trazas de HCB en aguas, que proporciona un límite de detección inferior a 0,5 pg/L. Con él se ha estudiado la distribución de este compuesto en un medio costero: las aguas del Delta del Ebro. Las mayores concentraciones de HCB se han determinado en el río y en el canal de riego, los valores medios de concentración en el canal de drenaje y en las bahías son un orden de magnitud inferiores a los del río. Estos resultados indican que el río es la fuente más importante de HCB en el delta y que la principal ruta de transporte de este compuesto hacia el mar lo constituyen las aguas del Ebro. Sin embargo, la preferencia que presenta el HCB para asociarse al material particulado indica que éste se acumulará principalmente en los sedimentos costeros (o incluso en la planicie deltaica) en lugar de ser transportado mar adentro.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- KEITH LM, TELLIARD WA: Environ. Sci. Technol. 1979. 13: 416-423.
- 2.- PETERS HA. Fed. Proc. 1976. 35: 2400-2403.
- 3.- SCHEUMERT I, MARRA C, VISWANATHAN R, KLEIN W, KORTE F. Chemosphere. 1983. 21: 843-858.
- 4.- APPERHUIZEN A, SERNE P, VAN DER STEEN JMD. Environ. Sci. Technol. 1988. 22: 886-892.
- 5.- TOBIN P. In Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". p. 3-11. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 1986.

- 6.- AHLING B, LINDSKOG A. Sci. Total Environ. 1978. 10:51-59.
- 7.- RIPPER G, FRANK R. In Morris, C.R. and Cabral, J.P.R. (eds.). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". p. 54-52. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 1986.
- 8.- ATLAS E, GIAM CS. Science. 1981. 211: 163-165.
- 9.- VILLENEUVE JP, CATTINI CH. Chemosphere. 1986. 15: 115-120.
- 10.- WITTLINGER R, BALLSCHMITER K. Chemosphere. 1987. 16: 2497-2513.
- 11.- MANSOUR M, SCHEUMERT I, VISWANATHAN R, KORTE F. In Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". p. 3-11. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 1986.
- 12.- BURNS KA, VILLENEUVE JP. Mar. Chem. 1987. 20: 337-359.
- 13.- ERNST W. In Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". p. 211-222. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 1986.
- 14.- IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. vol. 20. Some Halogenated Hydrocarbons, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp. 155-178. 1979.
- 15.- de LAPPE BW, RISEBROUGH RW, WALKER W. II. Can J. Fish. Aquat. Sci. 1983. 40: 322-336.
- 16.- AFGHAN BW, WILKINSON RJ, CHOW A, FINDLEY TW, GESSER HD, SRIKAMESWARAN KI. Water Res. 1984. 18: 9-16.
- 17.- JUNK GA, RICHARD JJ, GRIESER MD, WITIAK D, WITIAK JL, ARGELLO MD, VICK R, SVEC HJ, FRITZ JS, CALDER GV. J. Chromatogr. 1974. 99, 745-762.
- 18.- MUSTY PR, NICKLESS G. J. Chromatogr. 1974. 100: 83-93.

- 19.- OSTERROHT CJ. Chromatogr. 1974. 101: 289-298.
- 20.- LAWRENCE J, TOSINE HM. Environ. Sci. Technol. 1976. 10: 381-383.
- 21.- GOMEZ-BELINCHON JI, GRIMALT JO, ALBAIGES J. Environ. Sci. Technol., in press. 1988.
- 22.- AHNOFF M, JOSEFSSON B. Anal. Chem. 1974. 46: 658-663.
- 23.- EHRHARDT M. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences. No. 4., 14 p. 1987.
- 24.- ACEVES M, GRIMALT JO, ALBAIGES J, BROTO F, COMELLAS L, GASSIOT M. J. Chromatogr. 1988. 436: 503-509.
- 25.- HARVEY GR. WHO Contribution 72-86, unpublished manuscript. 1972.
- 26.- CAMP J, DELGADO M. Inv. Pesq. 1987. 51: 351-369.
- 27.- RISEBROUGH RW, de LAPPE BW, WALKER II W, SIMONEIT BRT, GRIMALT J, ALBAIGES J, GARCIA REGUEIRO JA, BALLESTER I NOLLA A, MARIÑO FERNANDEZ M. Mar. Pollut. Bull. 1983. 14: 181-187.
- 28.- ALBAIGES J, GRIMALT J, BAYONA JM, RISEBROUGH R, de LAPPE B, WALKER II W. Org. Geochem. 1984. 6: 237-248.
- 29.- GOMEZ-BELINCHON JI, LLOP R, GRIMALT JO, ALBAIGES J. Mar. Chem., in press. 1988.
- 30.- BRO-RASMUSSEN F. In Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". p. 211-222. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 1986.
- 31.- GAUL H, ZIEBARTH U. Dtsch. hydrogr. Z. 1983. 36:191-212.
- 32.- LU PY, METCALF RL. Environ. Health. Perspect. 1975. 101: 269.
- 33.- WILKEN RD, WIRTH H. In Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". p. 75-81. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. 1986.

34.- EKELUND R, GRANMO A, BERGGREN M, RENBERG L, WAHLBERG C.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1987. 38: 500-508.

Tabla 1. Concentraciones de HCB correspondientes a las muestras obtenidas en la evaluación de los métodos de muestreo para el análisis del material disuelto en agua.

Experimento	1						2						3					
	L-1	L-2	L-3	A-1	A-2	A-3	P-1	P-2	P-3	L-1	A-1	A-2	P-1	P-2	A-1	A-2	P-1	P-2
Muestra	100	100	106	260	467	795	490	1102	1900	99	255	481	253	650	538	560	1017	1040
Flujo mL/min	55	50	42	125	239	287	340	525	780	42	113	76	185	124	110	500	110	1000
Volumen, L	2.7	3.3	3.6	3.3	3.5	0.8	2.9	2.7	0.43	0.86	1.0	1.1	0.72	1.3	0.2	0.07	0.14	0.06

L, extracción líquido-líquido; A, adsorción en Amberlita XAD-2, P, adsorción en poliuretano. En cada experimento, todas las muestras que tienen el mismo código numérico fueron obtenidas en paralelo.

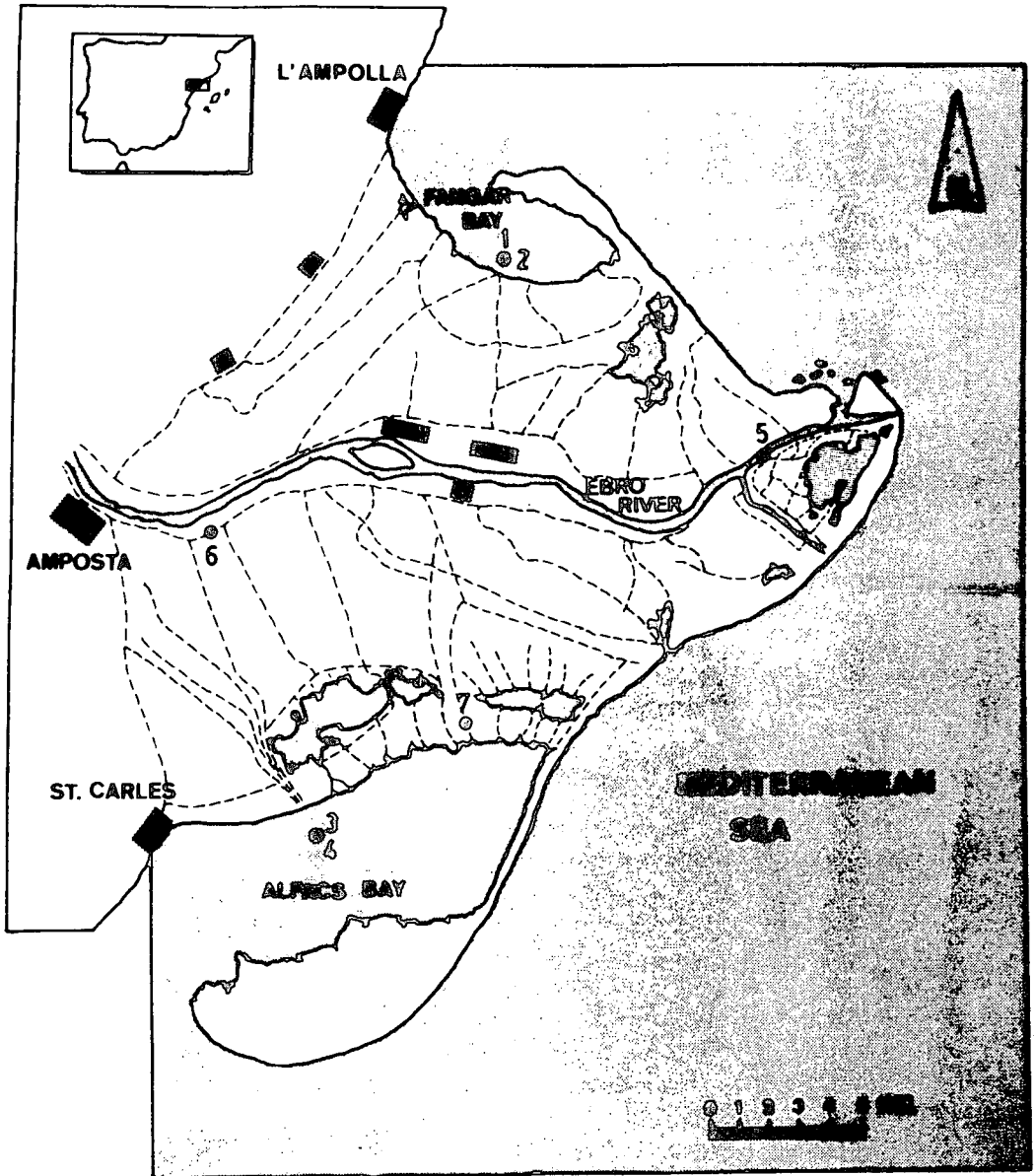
Tabla 2. Concentration de HCB en las aguas del delta del Ebro (en pg/L).
D = fase disuelta. P = fase particulada. Puntos de muestreo en Figura 1.

Puntos de muestro	1		2		3		4		5		6		7	
	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P	D	P
Marzo 1986	3.4	--	3.4	--	na	na	na	na	30	58	na	na	na	na
Mayo 1986	--	14	--	7.9	--	16	--	12	2.4	30	4.3	99	17	120
Julio 1986	1.7	13	3.0	--	1.9	--	0.9	--	2.7	310	12	1500	7	29
Setiembre 1986	21	27	1.6	15	0.6	--	9.4	--	95	1100	1000	2200	53	92
Noviembre 1986	2.2	5.4	4.1	24	1.2	19	0.6	--	5.0	1300	3.0	180	2.4	16
Enero 1987	1.0	53	1.4	81	2.4	150	2.1	35	200	440	na	na	na	na
Marzo 1987	1.7	--	0.8	15	--	--	--	27	83	1500	na	na	na	na
Mayo 1987	2.0	--	1.5	5.2	na	na	na	na	20	83	5	38	--	--
Media	4.1	14	2.0	19	1.0	31	2.2	12	55	600	200	780	20	51
Desviación estandard														
(% de la media)	170	130	70	140	100	190	160	130	130	100	220	120	110	100

a) --, no detectado, por debajo de 0.5 pg/L;

b) na, no analizado.

Figura I



**DETERMINACION DE HEXACLOROBENCENO EN PRODUCTOS CARNICOS
MEDIANTE CROMATOGRAFIA DE GASES CON COLUMNA CAPILAR.**

J.A. GARCIA REQUEIRO, I. DIAZ

Institut Català de la Carn (IRTA), Generalitat de Catalunya.
Granja Camps i Armet. Monells. Girona.

El hexaclorobenceno (HCB) es un potencial contaminante de la carne y productos cárnicos. La determinación de esta sustancia se suele realizar junto a la de los pesticidas organoclorados por su afinidad estructural. Las metodologías clásicas aplican la cromatografía de gases con columna de relleno, sin embargo la utilización de la cromatografía de gases con columna capilar (CGC) permite una identificación y cuantificación más fiable de HCB, sobre todo en matrices complejas como la que presentan los productos cárnicos, con un contenido elevado de grasa.

La extracción (10 g.) se efectuó con 50 ml de acetonitrilo, la solución obtenida se colocó en un embudo de decantación al que se añadieron 150 ml de hexano y 300 ml de agua, una vez separadas las fases se recogió la capa de hexano concentrándose a sequedad en rotavapor, el residuo se disolvió en 2 ml de hexano. La purificación se efectuó mediante cromatografía en columna con florisil, recogándose el HCB en la 1ª fracción de elución (110 ml) de hexano, eter dietílico (85:15), posteriormente se evaporó a sequedad y redisolvió en 500ul de hexano. Las condiciones cromatográficas fueron: columna FSOT RSL-150 (25m x 0,25mm.) programa de temperatura 80°C-5°C/min-260°C, gas portador He 30 cm/seg, detectores ECD y selectivo de masas HP-5970 (2200 V, 70 eV) en los modos SIM (m/z 284 y 285) y SCAN (m/z 50-

300), el modo de inyección usado fue el splitless en frío (Inyector PTV).

El aspecto más crítico de la determinación fue la separación del HCB de α -HCH. Para asegurar la identificación se efectuó el espectro de masas del pico asignado a HCB. La cuantificación se efectuó mediante el detector de captura de electrones. Los resultados obtenidos, en las muestras analizadas, evidenciaron la presencia de HCB en carne y productos cárnicos con concentraciones que no superaron las recomendadas por la FAO/OMS. Los valores encontrados estuvieron en el intervalo 0,05-0,01 ppm, únicamente dos muestras superaron 0,1 ppm.

**ESTUDIO DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS EN LECHE MATERNA EN
NAVARRA.**

J.A. PEREZ DE CIRIZA (*), A. SAMANES (*), J.E. OLIVERA (**),
C. GARCIA (**), R. ELCARTE (**), C. CONDE (***)

(*) Instituto de Salud Pública de Navarra. Pamplona.

(**) Hospital Virgen del Camino. Serv. Pediatría. Pamplona.

(***) Hospital Clínico. Serv. Pediatría. Madrid.

INTRODUCCION

Los plaguicidas organoclorados son compuestos orgánicos de estructura muy diferente, en la que se sustituyen uno o varios átomos de H por átomos de Cl. Todos estos principios activos son más o menos insolubles en agua, pero suelen disolverse fácilmente en grasas y lipoides.

Su liposolubilidad ofrece una gran afinidad con los lípidos y grasas de los órganos y posibilita el almacenamiento de algunas sustancias estables y lentamente degradables en las grasas del cuerpo y órganos ricos en lípidos.

Entre los organoclorados, el HCB se identificó en leche materna tras la intoxicación ocurrida en Turquía cuando aparecieron síntomas en niños cuyas madres habían estado en contacto con el HCB.

Durante los últimos 15 años, muchos estudios han encontrado niveles de contaminación de HCB en la leche materna. Entre las recopilaciones destaca la de Jensen en 1983 (2), que reproducimos en la tabla 1.

El HCB se ha utilizado como fungicida en diversas partes del mundo y se encuentra también como impureza de diversos plaguicidas organoclorados.

Así mismo, una gran fuente de HCB se encuentra en residuos industriales originados en la manufactura de diversos productos organoclorados.

Dentro del Programa de Seguridad Química de Plaguicidas del Instituto de Salud Pública de Navarra, se ha participado en la determinación de organoclorados en leche materna de un grupo de madres, integrándose dichas determinaciones dentro de un estudio, a nivel nacional, realizado por la Dra. Conde.

En cuanto a la utilización en Navarra del HCB como producto fitosanitario, puede considerarse pequeña. Concretamente, en los últimos años en que el producto estuvo a la venta se estima un consumo de 90 Kg. de producto comercial como desinfectante de semillas. Hace 15 años se llegó a utilizar en proporciones más importantes pudiendo valorarse su consumo anual como de unas 50 TM. de producto comercial del 15% de riqueza.

La utilización de otros productos que contienen HCB como residuos también se puede considerar como escasa y únicamente de Quintoceno se reconocen consumos importantes (unas 30 toneladas al 15% anual durante seis años).

No se ha identificado en Navarra ninguna industria de las descritas como generadoras de residuos de HCB, por lo que se podría valorar el nivel global de residuos generados como bajo.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos

Las muestras fueron obtenidas de 45 madres que vivían en Navarra y que habían alumbrado 4-5 días antes y cuya edad media era $26,7 \pm 5,5$.

Método

A todas las mujeres les fueron recogidas las muestras de leche mediante un saca-leches en el Hospital Virgen del

Camino de Pamplona. Se extraía la leche de ambos pechos sobre un recipiente esterilizado y separando posteriormente 20 ml. del mismo.

Además, a todas las mujeres se les realizaron unas encuestas que recogen datos sobre edad, domicilio, ocupación personal, ocupación familiar, alimentación, aumento de peso y tabaquismo o no, semejante a lo descrito por Weisenberg (6).

La determinación de residuos de plaguicidas organoclorados se realizó en el departamento de pediatría del Hospital Clínico de Madrid mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas obteniéndose valores de HCB, pp'-DDE, pp'-DDD y pp'-DDT.

RESULTADOS

Los valores totales obtenidos en los análisis se exponen en la tabla II.

Los resultados de las encuestas muestran que 16 de las mujeres eran mayores de 27 años, en 28 de ellas la lactancia tenía lugar por primera vez, 26 vivían en población rural, 4 tenían marido agricultor, 11 realizaban en algún caso labores agrícolas, 33 tenían huerta familiar de abastecimiento frecuente, 30 de ellas presentaban un aumento de peso en el embarazo superior a 10 Kg., 10 tenían un índice de sobre peso superior al 10% y 24 eran fumadoras.

Teniendo en cuenta estas diferencias, se formaron diversos grupos, viendo los resultados en relación a esos parámetros.

DISCUSION

Los valores obtenidos pueden considerarse en el mismo rango que los de otros estudios realizados. Lora y Cols. (3), Baluja y Cols. (1); Lorenzo y García (4); Villar y Cols. (5), en el estado español.

Llama la atención (aunque es lo habitual), que siga apareciendo pp'-DDT en leche materna después de varios años sin utilizarse prácticamente.

El análisis de los resultados de laboratorio relacionados con los parámetros descritos anteriormente en la encuesta muestran las siguientes diferencias significativas:

El nivel de pp'DDT entre madres que nunca realizan labores agrícolas y las que las realizan en alguna ocasión.

En las tablas III, IV y V se presentan como ejemplos los valores hallados en estos casos.

El nivel de pp'DDE entre madres cuyo aumento de peso en el embarazo ha sido mayor a 10 Kg. y las que el aumento ha sido menor o igual a 10 Kg.

En la tabla VI se presentan los datos correspondientes.

Hay también otros grupos muy próximos a la significación como los niveles de pp'-DDT entre madres que realizan lactancia por primera vez y las que ya la habían realizado anteriormente, y los de pp'-DDD entre madres mayores de 27 años y de menores o igual a esa edad.

Habría que tener mayor número de muestras para ver si las diferencias son realmente significativas o no teniendo en cuenta estos parámetros.

En este análisis no aparecen diferencias entre mujeres de residencia urbana con la rural, lo que induce a pensar que probablemente el contacto con esas sustancias no se lleva a cabo de forma directa, por otra parte son sustancias muy poco utilizadas en la actualidad, sino que el contacto normalmente se ha continuado realizando a través de la alimentación y, dadas las proporciones entre pp'-DDE y pp'-DDT, por alimentos contaminados hace ya bastante tiempo.

El valor de HCB podemos situarlo en el mismo rango que los de la recopilación de Jensen (2), si bien la media es alta dentro del mismo. No existen diferencias significativas entre los valores obtenidos relacionados con cada uno de los factores personales que se han tenido en cuenta.

CONCLUSIONES

1.- En Navarra no se detecta en la actualidad ninguna fuente específica de residuos de HCB y, pese a la pequeña utilización que ha habido del mismo, o de los productos de los que es residuo, en épocas anteriores, se detectan niveles de HCB en leche materna elevados.

2.- Teniendo en cuenta diversos parámetros personales relativos a edad, domicilio, ocupación personal, ocupación familiar, aumento de peso, alimentación y tabaquismo o no, no hay diferencias significativas en los valores de HCB.

3.- Si existen diferencias con respecto a algunos de esos parámetros en el pp'-DDE y pp'-DDT, estando además otros muy próximos a la significación y no dándose esta por cuestión de números de muestras.

4.- Se considera conveniente realizar un estudio reuniendo los valores nacionales comparables para ver si, al aumentar el número de muestras, aparecen más diferencias significativas según factores personales.

BIBLIOGRAFIA

1.- BALUJA G, y COLS. Presence of organochlorine pesticide, polychlorinated biphenyls and mercury in Sapanish human milk samples. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 1982. 29, 573.

2.- JENSEN AA. Chemical Contaminants in human milk. Residue Rev. 1979. 89.

3.- LORA y COLS. Plaguicidas organoclorados en leches humanas españolas. Rev. Esp. Pediatr. 1979. 35, 93.

4.- LORENZO D, GARCIA M. Determinación de residuos de pesticidas organoclorados en leche de mujer. Quim. Anal. 1976. 30, 319.

5.- VILLAR y COLS. Hexaclorobenceno (HCB) en leches humanas españolas. Rev. Esp. Pediatr. 1979. 35, 271.

6.- WEISENBERG E. Hexaclorobenzene in human milk: A polyhalogenated risk. IARC Scientific Publications. 77, 193. Lyon. 1986.

TABLAS

Tabla I

HCB EN LECHE HUMANA. (ppm)

De Jensen (1983)

País	Año	Media	Rango
Austria	1973	1,24	0'26 - 4'36
Bélgica, área rural	1976	1'17	0'74 - 2'16
Bélgica, área urbana	"	1'50	0'5 - 18'5
Francia	1971/2	0'98	0'05 - 3'50
Alemania	1976/7	0'59	0'04 - 5'27
Luxemburgo	1973	0'56	0,11 - 2'16
Noruega, Oslo	1979	0'13	0'06 - 0'65
España	1977	3'5	0'10 - 10'4
Suecia, Estocolmo	1976/7	0'11	0'04 - 0'22
Suiza, Basilea	1973	1'0	0'3 - 3'7
Suiza, Basilea	1978	0'54	0'13 - 2'23
Australia	1970/1	1'23	0'45 - 0'78
Hawaii	1979/80	0'04	0'018 - 0'063

Tabla II

MUESTRA TOTAL (ppm)

	Hexa- Clorobenzeno	p.p'-DDE	p.p'-DDD	p.p'-DDT
Media	1.727	1.473	0.069	0.286
Desviación Típica	0.907	0.961	0.068	0.356
Error Standar	0.135	0.143	0.010	0.053
Valor Máximo	3.434	4.163	0.206	2.137
Valor Mínimo	0.328	0.388	0.000	0.000
Número de Muestras	45	45	45	45

Tabla III

MADRES QUE PUEDEN REALIZAR EN ALGUN CASO LABORES AGRICOLAS
(ppm.)

	Hexa- Clorobenzeno	p-p'-DDE	p-p'-DDD	p-p'-DDT
Media	1.575	1.896	0.078	0.491
Desviación Típica	0.864	1.284	0'082	0.598
Error Standar	0.261	0.387	0.025	0.180
Valor Máximo	3.140	4.163	0.206	2.137
Valor Mínimo	0.328	0.388	0.000	0.000
Número de Muestras	11	11	11	11

Tabla IV

MUESTRAS DE MADRES QUE NUNCAN REALIZAN LABORES AGRICOLAS (ppm).

	Hexa- Clorobenzeno	p.p'-DDE	p.p'-DDD	p.p'-DDT
Media	1.777	1.337	0.066	0.220
Desviación Típica	0.928	0.808	0.063	0.205
Error Standar	0.159	0.139	0.011	0.035
Valor Máximo	3.434	2.901	0.203	0.913
Valor Mínimo	0.463	0.410	0.000	0.000
Número de Muestras	34	34	34	34

Tabla V

p.p'-DDT	Madres que nunca realizan labores agrícolas	Madres que pueden realizar en algun caso labores agrícolas
Número de Muestras	34	11
Media	0.220	0.491
Desvio Estandar	0.205	0.598

Sd = 0'1225 ; M/Sd = 2'21 ; P<0'05

Tabla VI

p.p'-DDE	Aumento de peso embarazo >10	Aumento de peso embarazo ≤ 10
Número de Muestras	30	15
Media	1.260	1.901
Desvio Standar	0.950	0.859

Sd = 0'2978 ; M/Sd = 2'1525 ; P<0'05

EQUIPOS DE ATENCION PRIMARIA Y SU RELACION CON EL MEDIO

AMBIENTE: HCB EN LECHE MATERNA.

M.A. SIENRA, L. JIMENEZ DE ANDRES, J. OYAURI, C. BELTRAN, P. ALANDETE.

Centro de Salud de Arévalo. Avila.

JUSTIFICACION

Ya en la conferencia Internacinal sobre atención primaria de salud, celebrada en Alta Ata (URSS) en 1978, y el Real Decreto de 37/1984 del Ministerio de Sanidad sobre estructuras básicas de salud, se mencionan al equipo de atención primaria como un equipo multidisciplinario que actuará como una unidad funcional y se define la SALUD, no como ausencia de enfermedad, sino como "situación de bienestar físico, psíquico y social". Teniendo en cuenta la interdependencia existente en materia de salud entre el individuo y la comunidad, y que la atención primaria de salud viene determinada, en su forma, por objetivos sociales, como el mejoramiento de la calidad de vida, y la obtención de beneficios sanitarios óptimos para el mayor número posible de individuos, parece razonable que el principio de actuación de todo el Equipo de Salud-Trabajador de Salud parta del conocimiento de la comunidad sobre la que trabaja y de la situación de mayor salubridad de ésta, ya sea por contaminantes orgánicos (bacterias, hongos), como inorgánicos (pesticidas, gases de combustión, etc.) y físicos (infecciosos), como psíquicos (neurosis...) o sociales (desintegración social, marginación).

Será a partir de la identificación de los distintos problemas de salud y su posible cuantificación cuando se pueden hacer prioridades y diseñar una estrategia de trabajo.

Durante el diagnóstico de salud medioambiental de nuestras respectivas Z.B.S. (Zonas Básicas de Salud), ya se inició el estudio orográfico y de utilización del suelo, llamando la atención la ausencia de control por parte de las autoridades sanitarias, al menos sobre el terreno, de los distintos pesticidas y abonos, así como la utilización indiscriminada de éstos por parte de los agricultores.

Más tarde entramos en contacto con la Dra. Carmen Conde del Hospital Clínico de San Carlos de Madrid, y sus estudios sobre Hexaclorobenceno y lindano, llevando a cabo este estudio en nuestro medio.

MATERIAL Y METODOS

Ante las elevadas cifras de HCB existentes en nuestras poblaciones, intentamos localizar las posibles fuentes contaminantes o productos de dicha sustancia, para lo cual se pensó en cuatro fuentes:

1º) Censo de los silos existentes, el tratamiento para la conservación de los mismos y del grano allí almacenado.

En las poblaciones estudiadas existen en la actualidad 4 silos, 2 pertenecientes al SENPA y 2 son de asociaciones privadas. De la información que pudimos obtener, no existe tanto en el tratamiento del silo para su conservación, como para el mantenimiento del grano ninguna sustancia que pudiera producir HCB.

Teniendo en cuenta que no todos los agricultores tienen la obligación de almacenar su grano en dichos silos.

2º) Encuesta a los agricultores sobre la utilización de productos tipo pesticidas, herbicidas, etc. nos encontramos con la existencia de dos productos que contienen HCB, a pesar que existe la tendencia a la no utilización de dicha sustancia por los riesgos que para la salud conlleva.

En cuanto al resto de los productos utilizados se escapa a nuestros conocimientos si en las reacciones que puedan dar lugar, se producía HCB.

Asimismo nos llamó la atención el elevado número de productos que contienen HCB y lindano, al ser sustancias que se tiende a su prohibición.

Por lo cual nos lleva a pensar que ésta pudiera ser la principal fuente de contaminación.

3º) Industrias contaminantes.

Las poblaciones estudiadas se encuentran lo suficientemente alejadas de cualquier posible industria contaminante.

Nos lleva de nuevo a pensar que las fuentes de contaminación deben ser los productos utilizados en la agricultura.

4º) En cuanto al estudio de las aguas lo único destacable es la no existencia de sistemas de depuración de aguas residuales. Y la deficiente cloración de las aguas de bebida, que en algún caso es inexistente. En cuanto a la posible contaminación de las aguas por HCB carecemos de estudios y datos al respecto.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

De las 37 muestras estudiadas de nuestra Comunidad (Castilla y León), 13 pertenecen a una localidad rural de características de zona de huerta, y 24 pertenecen a localidades enmarcadas dentro de la meseta castellana, caracterizadas por el cultivo de secano (cereal) y regadío (remolacha azucarera).

Para el primer área se han obtenido unas cifras medias 1,330 ppm., comparables a las de otros puntos de la geografía nacional como es Valencia, por el contrario, la segunda zona cerealista presenta una cifra media de 4,990 ppm. en 1984 y 3,743 ppm. en 1987, y aunque por el número de muestras obtenidas, no son comparables estadísticamente con las de otras zonas, sí llaman la atención por lo elevadas.

La otra localidad cerealista con un número de muestras de 13, presenta una media de 2,272 ppm. que aunque tampoco es comparable estadísticamente, sí podemos decir que se aproximan a cifras encontradas en zonas de características industriales y cercanas a posibles focos de contaminación, circunstancias que no parece probable tras el somero estudio de investigación realizado, que se den en nuestras zonas.

En cualquiera de los casos comparando estas dos últimas localidades con la revisión que hace Jensen en 1983, observamos estar en una situación muy por encima de los datos reflejados.

El desconocimiento de la trascendencia real que para la salud puedan tener estos hallazgos, como el interrogante de la recomendación de la lactancia materna, que en nuestros equipos de atención primaria desarrollamos como objetivo prioritario dentro del programa materno-infantil, nos hace interesarnos por cuantos estudios se puedan llevar a cabo, así como nuestra participación en ellos. Al igual que pensamos que en una comunidad agrícola fundamentalmente como la nuestra con un uso inadecuado de pesticidas y herbicidas, así como la falta de legislación e información al agricultor, se hace necesario realizar, y ésta es la conclusión que obtenemos de nuestro trabajo, un muestreo estadísticamente extrapolable en toda la Comunidad de Castilla y León, clasificando en cuatro grupos claramente diferenciados:

- 1.- Huertas y frutales.
- 2.- Areas dedicadas a la agricultura de montaña y explotación forestal.
- 3.- Zona urbana.
- 4.- Cultivo de secano (cereales).

Aportando los equipos de atención primaria dichas muestras, así como la información necesaria sobre actividad, uso agrícola, etc.

Siendo los profesionales especializados los que investigarían y obtendrían los resultados y conclusiones finales, pensamos que la colaboración sólo puede ser beneficiosa para la salud de la población.

CARCINOGENESIS INDUCIDA POR HEXACLOROBENCENO (HCB).

J.R.P. CABRAL

Unit of Mechanisms of Carcinogenesis. International Agency for Research on Cancer. Lyon. Francia.

RESUMEN

El Hexaclorobenceno (HCB) ha sido utilizado como fungicida, es un contaminante de diversos plaguicidas y es un subproducto en la fabricación de otros muchos hidrocarburos clorados. En Turquía, el HCB provocó una epidemia de porfiria tóxica implicando varios millares de personas entre 1955 y 1959. El objetivo de estos estudios es determinar la toxicidad crónica del HCB después de una administración oral prolongada. Referimos aquí que el HCB es carcinogénico en ratones y hámsteres. A los ratones y hámsteres se les administró HCB en la dieta a dosis de 50, 100 y 200 ppm por día durante toda la vida; en el grupo de HCB 200 se registraron muertes debidas a manifestaciones tóxicas del HCB. Se sacrificaron todos los supervivientes después de 120 semanas. En ratones y hámsteres la exposición al HCB aumentó la incidencia de los tumores hepáticos, pero no se observaron tales tumores en los controles. Se notó un aumento significativo en la incidencia de tumores de tiroides y hemangioendoteliomas del hígado en los hámsteres tratados con HCB. Nuestros descubrimientos de la carcinogenicidad del HCB en ratones y hámsteres así como otros resultados que evidencian el mismo efecto en ratas proporcionan una prueba experimental suficiente para recomendar una gran prudencia con el uso de este material.

INTRODUCCION

El HCB ha sido utilizado como fungicida, es un contaminante de plaguicidas ampliamente utilizados como el dactal y el pentacloronitrobenzoceno (IARC, 1979) y se libera al medio ambiente como subproducto en la fabricación de otros muchos hidrocarburos clorados. Se estima en más de 1.000.000 Kg la producción anual de HCB en los Estados Unidos (National Academy of Sciences, 1975). En Turquía, el HCB provocó una grave epidemia de porfiria tóxica implicando a varios millares de personas entre 1955 y 1959 (Schmid, 1960; Ockner & Schmid, 1961; Cam & Nigogosyan, 1963). A pesar de una proscripción del HCB en 1959, síntomas de enfermedad debidos a esta porfiria tóxica persistieron largo tiempo (Peters et al., 1982).

El propósito de estos estudios es determinar la toxicidad crónica del HCB después de una administración oral prolongada. Este informe describe una serie de experimentos demostrando el efecto carcinogénico del HCB en ratones y hámsteres.

MATERIAL Y METODOS

El HCB de grado analítico orgánico (>99,5% puro) fue proporcionado por BDH Chemicals Ltd (Poole, Dorset, GB). El producto químico fue disuelto en aceite de maíz Mazola y luego mezclado con la dieta a diversas concentraciones. Se utilizaron ratones "outbred" y hámsteres dorados de Siria de 6-7 semanas de edad. El régimen de dosificación, la dimensión de los grupos y la duración del tratamiento están presentados en la Tabla 1.

Los experimentos se terminaron a 120 semanas de edad cuando todos los supervivientes murieron. Durante los experimentos, todos los animales fueron inspeccionados dos veces al día, el peso del cuerpo fue registrado cada dos semanas y se sacrificaron a los animales en mala condición. Un reconocimiento macroscópico fue realizado de cada animal.

RESULTADOS

Ratones.

Las tasas de supervivencia de los ratones alimentados con HCB aparecen en la Tabla 2. Las duraciones de vida disminuyeron después de la treinteava semana para los ratones que ingerieron 22 ppm de HCB en comparación de los controles. Una supervivencia reducida se asoció con la presencia de tumores y convulsiones. Cierta reducción de la tasa de crecimiento fue observada entre hembras de los grupos HCB 50 y 200 y de manera más marcada entre machos de los grupos HCB 100 y 200.

La Tabla 3 resume los tipos de tumores y la incidencia en los diversos grupos de ratones. El porcentaje de animales con tumores se basó en el número de ratones todavía vivos en el momento de la observación del primer tumor en cualquier localización en un ratón moribundo en cada grupo. Entre los controles no tratados, el porcentaje de animales con tumores era un 80% en las hembras y 47% en los machos. Las proporciones correspondientes en todos los animales tratados eran semejantes o un poco más bajas.

Los tumores más frecuentemente observados en ratones tratados y no tratados eran linfomas y adenomas de pulmón, mientras tumores hepáticos sólo aparecieron en animales tratados con HCB. Los linfomas incluyeron los linfosarcomas de timo, linfomas de origen abdominal y los reticulosarcomas. Considerando ambos sexos juntos, la incidencia fue de 35% en los controles, 48% en el grupo HCB 50, 21% en el grupo HCB 100 y 11% en el grupo HCB 200. Los grupos HCB 100 y HCB 200 presentaron una incidencia relativamente baja de estos tumores en comparación de los demás grupos. Por lo menos en el grupo HCB 200, eso probablemente refleja la corta duración de la vida de estos animales, ya que la edad media al momento de la muerte entre los ratones con linfomas era de 56 semanas en este grupo vs. 86 semanas en los controles.

Los tumores de pulmón incluyeron todos los tumores de origen epitelial, independientemente de sus grados de diferenciación morfológica, pero pocos tumores ocurrieron en cada pulmón en los controles como en los grupos tratados con HCB. La incidencia de los tumores de pulmón no evidencia ninguna diferencia por sexo, salvo para el grupo de HCB 100

en el cual ningún tumor de pulmón fue encontrado entre los machos. Tumores hepáticos se observaron en animales alimentados con 100 y 200 ppm HCB, pero no en el grupo de HCB 50 ni en los controles. La incidencia fue de 0% en grupo de HCB 50, 10% en el grupo de HCB 100 y 25% en el grupo HCB 200. Histológicamente, los tumores hepáticos presentaban algunos tipos diferentes. En algunos casos había un crecimiento diferenciado, nodular y compresivo, mientras en otros los hepatocitos estaban dispuestos siguiendo patrones trabeculares y/o glandulares con total pérdida de la arquitectura lobular del hígado. Ninguna metástasis de los tumores hepáticos se encontró en los diversos órganos examinados.

Otros tumores observados en ratones tratados y no tratados aparecen en la Tabla 3.

Hámsteres dorados de Siria.

A 50 semanas de edad, un 71% de los animales tratados estaban todavía vivos; esta tasa de supervivencia se parece a la de los controles. Después de 70 semanas, una reducción de la supervivencia se observó en hembras y machos a la dosis más elevada de HCB en comparación de los controles. Los machos del grupo de HCB 200 presentaron una fuerte reducción de peso. La Tabla 4 facilita datos acumulativos sobre la incidencia tumoral a cada nivel de dosificación. El porcentaje de animales con tumores varía: los controles tienen una incidencia de 10% y los hámsteres del grupo HCB 200 una incidencia media de 92%. Por lo tanto, había una diferencia evidente asociada al tratamiento. El número medio de tumores por hamster y el porcentaje de hámsteres con más de un tumor indican también una relación dosis-respuesta.

Todos los 15 tumores de tiroides eran adenomas alveolares y sólo se encontraron en animales tratados. Había un aumento significativo ($p < 0,05$) en la aparición de estos tumores en los machos del grupo HCB 200 comparado con los controles machos.

Ningún tumor hepático se observó en el grupo control. En los animales tratados con HCB, la incidencia aumentó de un 46% en el grupo HCB 50 hasta un 85% en los hámsteres del grupo 200. No se identificó ningún tumor hepático. El primer

tumor hepático ocurrió en una hembra que murió después de 18 semanas de tratamiento.

Hemangioendoteliomas del hígado se observaron sólo en los grupos tratados con HCB. La incidencia más elevada y más significativa ocurrió en el grupo HCB 200, viz. 11,6% hembras y 35% machos. Tres de los hemangioendoteliomas en estos animales metastatizaron. Algunas de estas metástasis se observaron en el bazo.

DISCUSION

Los resultados demuestran la carcinogenicidad del HCB. Con otros carcinogenos conocidos, tal como la dimetilnitrosamina, el cloruro de vinilo y la fluorenilacetamida, hay un amplio espectro de actividad carcinogénica en diferentes tejidos y especies. En este experimento, una dosis de HCB desde 50 hasta 200 ppm resultaron en una inducción significativa de los tumores hepáticos, hemangioendoteliomas y adenomas del tiroides en hámsteres y tumores hepáticos en ratones de ambos sexos. Esos efectos pueden indicar que el HCB obra como algunos carcinógenos que tienen una actividad multipotencial. Un enfoque meramente cuantitativo indica que una toma de HCB de 4-24 mg/Kg de peso al día en nuestros ratones y hámsteres estaba dentro de las cantidades estimadas y fortuitamente consumidas por la gente de Turquía durante varios meses hace algún tiempo, y que resultaron en una grave epidemia de porfiria tóxica.

Experimentos de alimentación en ratas evidenciaron una incidencia aumentada de tumores hepáticos (Smith & Cabral, 1980), de tumores hepáticos y de tumores renales (Lambrecht et al. 1983 a, b).

Nuestros descubrimientos de la carcinogenicidad del HCB en ratones y hámsteres (Tabla 5) así como otros datos indicando el mismo efecto en ratas, proporciona una evidencia experimental suficiente sobre la carcinogenicidad de este producto como para recomendar una gran prudencia al utilizarlo. Además, investigaciones sobre efectos a largo plazo con humanos que han sido expuestos al HCB parecen factibles y deseables y se necesitan urgentemente.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- CABRAL JRP, MOLLNER T, RAITANO F, SHUBIK P. Carcinogenesis of hexachlorobenzene in mice. Int. J. Cancer. 1979. 23, 47-51.
- 2.- CABRAL JRP, SHUBIK P, MOLLNER T, RAITANO F. Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. Nature (London), 1977. 269, 510-511.
- 3.- CAM C, NIGOGOSYAN GJ. Acquired toxic porphyria cutanea tarda due to hexachlorobenzene. J. Am. Med. Assoc., 1963. 183, 88-91.
- 4.- IARC. Hexachlorobenzene, in Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Man. Vol. 20, Some halogenated hydrocarbons. International Agency for Research on Cancer, Lyon. 1979.
- 5.- LAMBRECHT RW, ERTURK E, GRUNDEN EE, PETERS HA, MORRIS CR, BRYAN GT. Hepatocarcinogenicity of chronically administered hexachlorobenzene in rats. Fed. Proc., 1983. 42, 786.
- 6.- LAMBRECHT RW, ERTURK E, GRUNDEN EE, PETERS HA, MORRIS CR, BRYAN GT. Renal tumours in rats chronically exposed to hexachlorobenzene (HCB). Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 1983. 24, 59.
- 7.- NAS. Assessing potential ocean pollutants, pp 188-208. National Academy of Sciences, Washington, D.C. 1975.
- 8.- OCKNER RK, SCHMID R. Acquired porphyria in man and rat due to hexachlorobenzene intoxication. Nature (London), 1961. 189, 499.
- 9.- PETERS HA, GOCMEN A, CRIPPS DJ, BRYAN GT, DOTRAMACI I. Epidemiology of hexachlorobenzene induced porphyria in Turkey. Clinical and laboratory follow-up after 25 years. Arch. Neurol., 1982. 39, 744-749.
- 10.- SMITH AG, CABRAL JRP. Liver-cell tumours in rats fed hexachlorobenzene. Cancer Lett. 1980. 11, 169-172.

Table 1

Dosage regime for HCB in mice and hamsters

Group	No and sex of mice		No and sex of hamsters		Duration of treatment	Calculated daily intake (mg/kg bw)
	F	M	F	M		
Control	50	50	40	40	Lifespan	0
HCB 50 ppm ¹	30	30	30	30	Lifespan	4-6
HCB 100 ppm	30	30	30	30	Lifespan	8-12
HCB 200 ppm	50	50	60	59	Lifespan	16-24

¹ ppm, parts per million

Table 2

Survival rates of mice given HCB

Group	No. and sex of animals	7	30	50	70	90	110
Control	50 F	100	98	94	86	48	14
	50 M	100	94	92	82	50	4
HCB 50	30 F	100	93	83	67	40	-
	30 M	100	100	87	63	30	10
HCB 100	30 F	100	100	100	70	30	-
	30 M	100	97	83	67	27	-
HCB 200	50 F	100	90	40	14	-	-
	50 M	100	86	48	10	4	-

Table 3

Tumor incidence in mice given HCB

Group No.	Initial No. Animals	Effective No. Animals	TBA No. %	Animals with tumours										
				Lymphomas No. %	Lung No. %	Liver No. %	Conads No. %	Other No. %						
Control	F 50	49	39	80	21	43	14	29	0	0	3	6	9	18
	M 50	47	22	47	12	26	13	28	0	0	0	0	4	9
HCB 50	F 30	30	21	70	16	53	4	13	0	0	2	7	2	7
	M 30	30	15	50	13	43	4	13	0	0	0	0	0	0
HCB 100	F 30	30	13	43	5	17	6	20	3	10	1	3	3	10
	M 30	29	10	34	7	24	0	0	3	10	0	0	1	3
HCB 200	F 50	41	19	46	5	12	2	5	14	34	1	2	1	2
	M 50	44	12	27	4	9	4	9	7	16	1	2	0	0

Table 4
Tumour incidence in hamsters given HCB

Group	Effective		TBA		Thyroid		Liver-cell tumours		Hemangioendotheliomas		Other		
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	Liver No.	%	Spleen No.	%	
Control	39 F	5	12.8	0	0	0	0	0	0	0	1	2.5	
	40 M	3	7.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
HCB 50	30 F	16	53.3	2	6.6	14	46.6	0	0	0	0	0	
	30 M	18	60.0	0	0	14	46.6	1	3.3	1	3.3	11	36.6
HCB 100	30 F	18	60.0	1	3.3	17	56.6	2	6.6	3	10.0	9	30.0
	30 M	27	90.0	1	3.3	26	86.6	6	20.0	3	10.0	9	30.0
HCCB 200	60 F	52	86.6	3	5.0	51	85.0	7	11.6	4	6.6	8	13.3
	57 M	56	98.2	8	14.0	49	85.9	20	35.0	4	7.0	6	10.5

TABLE 5

SUMMARY OF LONG-TERM FEEDING EXPERIMENTS WITH HCB

Species	No. of animals		Intake (mg/kg bw/day)	Evidence of carcinogenicity
	Control	Treated		
Mice	100	220	6—24	Liver carcinogenicity
Hamsters	80	239	4—16	Liver carcinogenicity Thyroid adenomas
Rats	106	219	3.5—7	Liver carcinogenicity Kidney adenomas

ESTUDIO DE PLAGUICIDAS ORGANOCORADOS EN SUERO DE APLICADORES

J.A. PEREZ DE CIRIZA (*), A. SAMANES (*), E. GIL (**), P. FRAILE (**), V. GARISOAIN (*), C. MARTINEZ DE LIZARRONDO (*).

(*) Equipo Seguridad Química. Instituto de Salud Pública de Navarra. Pamplona.

(**) Laboratorio de Química. Instituto de Salud Pública de Navarra. Pamplona.

INTRODUCCION

El descubrimiento de las propiedades insecticidas del DDT inició una revolución en el campo de los plaguicidas ya que hizo que se sustituyesen los productos clásicos por derivados de la Química Orgánica.

Al ser el DDT un derivado clorado se abrió, a su vez, un camino para la aparición de materias activas dentro de este campo, desarrollándose así un conjunto de productos que ocupan un lugar de gran importancia en el total de plaguicidas empleados.

El HCB presenta algunas características especiales dentro del grupo ya que durante un tiempo (décadas 50/60/70), fue utilizado como fungicida en varias partes del mundo, siendo retirado posteriormente, pero apareciendo como una importante impureza de diversas plaguicidas.

En la actualidad hay una reacción contra el uso de estos derivados organoclorados justificada por el hecho que son persistentes y acumulativos, teniendo el presente trabajo, que está enmarcado dentro del PROGRAMA DE SEGURIDAD QUIMICA DE PLAGUICIDAS del Instituto de Salud Pública de

Navarra, el objetivo de detectar los niveles de varios plaguicidas organoclorados, entre ellos el HCB, en suero de aplicadores de plaguicidas.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos.

Los sujetos son 147 agricultores de las localidades navarras de Azagra, Lodosa, San Adrián y Sartaguda que, entre sus labores agrícolas, realizan los tratamientos con plaguicidas de sus cultivos. La edad media del grupo es de $49,58 \pm 10,88$ años y la antigüedad como aplicadores $31,25 \pm 13,82$ años.

Material.

A todos ellos se les realizó una encuesta que comprendía historial médico e historial laboral y se les realizaron extracciones de sangre, así como recogida de muestras de orina.

En el presente trabajo se analizan tan sólo las muestras de sangre obtenidas en cuyos sueros se determinaron, por cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones en el laboratorio del Instituto de Salud Pública de Navarra, los niveles de HCB, Lindano, B-HCH, DDE y DDT. Según el método descrito por Ordoñez (7).

RESULTADOS

En las 147 muestras analizadas se ha detectado la presencia de Lindano en un 8,84%; B-HCH, 76,2%; DDE 100%; DDT 30,6% y HCB en un 90,47%.

Los valores medios obtenidos se expresan en la tabla I.

Pese al pequeño número de muestras, se han calculado los valores medios de las concentraciones séricas de dichos residuos en relación con grupos de edad, así como los valores medios totales, clasificando como jóvenes los menores de 36 años de edad y como no jóvenes los que la superaban. En las tablas II y III se recogen los valores de ambos grupos.

DISCUSION

De los resultados obtenidos llaman en primer lugar la atención los bajos niveles de Lindano ya que pese a que utilicen este producto el 23,47% de los aplicadores estudiados, en tan sólo el 8,84% se detectan valores en suero del mismo, no habiendo diferencias significativas entre los que lo utilizan y los que no, ni entre los mayores de 35 años y los menores y siendo en todos los casos los valores bajos (máximo 21,20).

Respecto al B-HCH, aunque no se utiliza actualmente, en los valores del mismo no existen diferencias significativas entre los distintos grupos de edad, siendo los valores obtenidos ligeramente superiores a los del Lindano.

Para el pp'-DDE, metabolito del pp'-DDT, hubo una incidencia del 100%, lo que indicaría una presunta exposición general al DDT derivada del contacto con este pesticida, que después de su degradación metabólica parcial a pp'-DDE se almacena como tal. Los valores encontrados se sitúan en niveles semejantes a los descritos para 1981 en Navarra (7).

Dada su gran persistencia hay que pensar que las tasas se incrementen con la edad, pero observando los datos encontrados no hay diferencias significativas ni para el pp'-DDE ni para el pp'-DDT entre los 2 grupos de edad.

Los valores medios de pp'-DDT están situados hacia la tercera parte de los valores cuantificados para pp'DDE, lo que parece coincidir con el criterio de la OMS sobre exposición crónica de DDT.

Los valores de pp'-DDT hallados en los 147 sueros estudiados son ligeramente superiores a los de Ordoñez y cols. (7), Wyllie y cols. (9) y Keil y cols. (3), significativamente inferiores a los encontrados por Laguna y cols. (4) y se marca gran diferencia con los valores encontrados en la India por Siddiqui y cols. (8) donde los niveles de DDT en el suero de los trabajadores expuestos fueron mayores que los niveles admisibles.

De todos estos datos el más interesante puede resultar la disminución frente a los valores encontrados por Ordoñez ya que se refieren también a población Navarra y puede

significar una disminución de los niveles después de un período sin nuevas aplicaciones.

Finalmente los valores obtenidos de HCB son claramente superiores a los de Nijhuis y Heeschen, de Alemania (6), Leoni y cols. de Italia (5) y Bertram y cols. de Alemania (1), inferiores a los de Jemaa y cols. de Túnez (2).

Se ven diferencias significativas para HCB, entre el grupo de aplicadores menores de 36 años y el de mayores, lo que puede considerarse lógico por el carácter acumulativo del producto, aunque en los otros productos no se encontrasen diferencias.

El estudio por grupos de edades cada 5 años (Tabla IV) parece sugerir que no es que realmente los valores estén relacionados directamente con la edad sino que hay 2 grupos diferentes: uno uniforme, el de mayores de 35 años, y otro, el de jóvenes, en ascenso, ya que un sujeto del grupo de 26 a 30 años con un valor de 55.2 hace que aumente mucho la media del grupo que si no sería de 15.17. De cualquier forma, el pequeño número de muestras en este grupo hace que este extremo sea dudoso. Probablemente, de confirmarse esta teoría, esto puede atribuirse a que el HCB está en el medio desde hace 35 a 40 años y la exposición al mismo hace que sus niveles en suero sean acumulativos, lo que se ve en menores de esa edad, siendo uniforme en los mayores por tener toda exposición semejante.

CONCLUSIONES

1.- El estudio de residuos de varios organoclorados muestra valores por encima de los límites de detección en todos los sueros analizados, en mayor o menor proporción de cada uno de los residuos.

2.- Pese a ser el único producto que se está utilizando actualmente los valores encontrados de Lindano se pueden considerar bajos en relación con el resto de los residuos.

3.- Se encuentran residuos de DDE en todas las muestras analizadas a niveles estables desde 1981.

4.- El HCB presenta valores considerados como altos en relación con otros países en desarrollo, si bien en el presente estudio se trata de sujetos que utilizan plaguicidas y en los otros de población general, por lo que habría que hacer otros estudios con aplicadores y grupos control para ver diferencias en la misma población, y entre poblaciones semejantes.

5.- El análisis comparativo de residuos en relación con la edad tan sólo muestra diferencias significativas en el HCB, si bien no se puede concluir que haya relación entre HCB en suero y edad, pudiendo sugerirse la posibilidad de que haya dos grupos diferentes de sujetos con relación a los valores de HCB viéndose más o menos uniformes en el grupo de mayores de 35 años y en ascenso en el grupo de menores, por lo que probablemente hay que pensar que el valor de HCB se ha ido acumulando en el organismo humano desde que comenzó su utilización hace aproximadamente 35 a 40 años, estando sus valores relacionados con la edad en los menores, y siendo uniforme en los mayores de esa edad, ya que todos ellos tienen el mismo tiempo de exposición.

De cualquier forma, sería preciso aumentar el número de muestras de sujetos para ver si se da esta supuesta relación con la edad en los jóvenes y la falta de correlación en las personas mayores.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- BERTRAM HP. Y COLS. Hexachlorobenzene content in human whole blood and adipose tissue: experiences in environmental specimen banking. IARC Scientific Publications. Nº 77, 173-188. Lyon 1986.
- 2.- JEMAA Z. Y COLS. Hexachlorobenzene in tunisian mothers milk, cord blood and foodstuffs. IARC Scientific Publications. Nº 77, 139-142. Lyon. 1986.
- 3.- KEIL EI. Y COLS. DDT and DDE residues in blood from children South Caroline. Pesticide Monitoring J. 1970.. 1-3.
- 4.- LAGUNA D. Y COLS. Indagación de residuos plaguicidas organoclorados en sueros humanos. Arch. Farmacol. y Toxicol., 1975. I, 2, 173-184.

5.- LEONI V. Y COLS. Spontaneous abortion in relation to the presence of hexachlorobenzene in the Italian environment. IARC Scientific Publications. Nº 77, 143-146. Lyon. 1986.

6.- NIJHUIS H, HEESCHEN W. Hexachlorobenzene contamination of milk and human samples. IARC Scientific Publications. Nº 77, 133-137. Lyon. 1986.

7.- ORDÓÑEZ JM. Y COLS. Residuos de pesticidas en suero. I Congreso Iberoamericano de Toxicología. Sevilla. 1982.

8.- SIDDIQUI MKJ. Y COLS. Long-term occupational exposure to DDT. Int. Arch. Occup. Environ. Health, 1981. 48 , 301-308.

9.- WYLLIE J. Y COLS. Comparative organochlorine pesticide residues in serum and biopsied lipid tissue: A survey of 200 persons in Southern Idaho. Pesticide Monitoring J., 1970. 6. 80-83.

TABLAS

Tabla I

RESIDUOS	\bar{x} (ppb)	S
LINDANO	4,315	5,675
B-HCH	5,076	4,375
DDE	15,156	12,201
DDT	5,461	2,501
HCB	22,216	9,954

Tabla II

EDAD >35 ; Número de muestras: 128

RESIDUOS	\bar{x} (ppb)	S
HCB	22,847	9,656
LINDANO	5,260	6,210
B-HCH	5,118	3,706
DDE	15,757	12,442
DDT	5,708	2,623

Tabla III

EDAD \leq 35 ; Número de muestras: 19

RESIDUOS	X (ppb)	S
HCB	17,912	11,165
LINDANO	1,167	0,643
B-HCH	4,725	8,327
DDE	11,105	9,758
DDT	3,883	1,685

Tabla IV

EDAD	N	X (ppb)	S
\leq 25	1	11,800	-----
26-30	8	20,175	15,526
31-35	8	16,412	5,485
36-40	12	21,033	8,338
41-45	11	23,582	14,821
46-50	20	22,405	6,852
51-55	19	23,421	10,733
56-60	28	22,664	10,235
61-65	25	23,440	8,896
> 65	1	24,700	-----

**ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE HCB EN TEJIDO ADIPOSEO EN LA
POBLACION DE ZARAGOZA.**

A. FERRER (*), M.A. BONA (*), M. CASTELLANO (*), M. BRUNET (**), J. TO-FIGUERAS (**).

(*) Servicio de Toxicología. Hospital Clínico. Zaragoza.

(**) Servicio de Toxicología. Hospital Clínico. Barcelonal.

Con la intención de aportar el perfil de impregnación de HCB en la población de Zaragoza hemos recogido 67 muestras de grasa abdominal en autopsias de cadáveres realizadas en el IAF de Zaragoza en los últimos 6 meses de 1987.

La población estudiada está constituida por 49 hombres y 18 mujeres distribuidos heterogéneamente en todas las edades desde 16 a 94 años siendo algo más numerosos los casos en la 5a y 6a década, en que se invierte la proporción (Tabla 1).

La mayoría de las muertes tuvieron una causa violenta (n = 56), siendo las naturales (n = 19) atribuidas a insuficiencia cardio-respiratoria, infarto de miocardio o hemorragia cerebral. Aunque no se dispone de datos fiables de antecedentes patológicos, al menos las causas de muerte violenta y las que se refieren en nuestros casos como naturales no se relacionan en principio con situaciones que produzcan una movilización de los depósitos grasos por adelgazamiento en procesos caquetizantes. Por ello consideramos nuestra muestra en lo que se refiere al contenido de HCB en su tejido adiposo representativa de la población urbana de Zaragoza.

Las muestras han sido analizadas mediante cromatógrafo de gases tras extracción en disolvente orgánico.

Se ha hallado HCB en el 100% de las muestras estudiadas en concentraciones que tienen una media $x=2,9436$ ppm. con una varianza de $S^2 = 5,8294$ y una desviación estandar de $2,41 (2,94 \pm 2,41)$.

Estudiando estos resultados por sexos se encuentra que:
En los varones $N=49$; $x=2.3641$; $S^2=11.0107 (4,52\pm 3,32)$;
y en las mujeres $N=18$; $x= 4.5211$; $S^2= 11.0107 (4.52\pm 3.32)$.

Estos resultados se han comparado mediante contraste bilateral con el estadístico Z, dando como resultado $Z = -2,6425$ con un nivel de significación de 0,01 lo que permite concluir que la diferencia entre la media de las concentraciones entre mujeres y hombres es estadísticamente significativa. En la Tabla 2 se han situado el número de casos separados por sexos en 5 grupos de concentraciones: inferiores a 2 ppm, entre 2 y 4 ppm, entre 4 y 6 ppm, entre 6 y 8 ppm y por encima de 8 ppm, observándose un claro predominio de las mujeres en la barra que representa concentraciones superiores a 8 ppm. Esta correlación con el sexo, que no hemos encontrado en la bibliografía consultada puede relacionarse con el hecho de que en nuestro grupo dominan las mujeres en edades avanzadas.

En efecto, realizando el pertinente estudio estadístico entre la edad y la concentración de HCB (Tabla 3) se encuentra una clara correlación positiva con un coeficiente de correlación $r= 0,3738$. Un caso que se desvía de esa tendencia corresponde a un varón de 30 años que presentaba una concentración de 9,81 ppm. El caso con mayor concentración corresponde a una mujer de 94 años con 10,90 ppm. Esta correlación edad-concentración sí se encuentra recogida por diversos autores y debe responder al efecto acumulativo de un mayor tiempo de exposición (1).

En un intento de poner de manifiesto las posibles fuentes de este contaminante en nuestra región hemos trazado un esbozo del perfil industrial de Zaragoza y su provincia (Tabla 4).

En el capítulo de Energía y agua hay dedicadas a la extracción, preparación y aglomeración de combustibles

sólidos 4 empresas; a la extracción y transformación de minerales no energéticos se dedican 120 empresas y hay 249 industrias de productos minerales no metálicos. En la agrupación correspondiente a la industria química hay tres fábricas de productos químicos básicos orgánicos de origen petroquímico, 9 de productos químicos inorgánicos y 8 de abonos y plaguicidas. En este último apartado, no ya en la provincia pero si en la región tenemos en Sabiñánigo, provincia de Huesca, una empresa productora de Lindano que ha sido recientemente acusada de vertidos medio ambientales de halogenuros de benceno. El grupo más numeroso está constituido por industrias de la madera y corcho seguidas de calzado y otras confecciones textiles dentro del apartado de industrias manufactureras. En muchos de los procedimientos industriales propios de las empresas mencionadas se emplean disolventes orgánicos potencialmente convertibles en organoclorados cuyo destino en forma de residuos industriales no está en absoluto controlado.

Comparando nuestros resultados con algunos de los encontrados en la bibliografía que se exponen en la Tabla 5 nos encontramos ocupando un lugar superior a la media, detras de la RFA y de Barcelona según los datos presentados por J. To en 1985 (2,11). En esta tabla llaman la atención por un lado las bajas concentraciones encontradas en Japón pese a su alto nivel de industrialización y por otro la evidente correlación con la edad que se pone de manifiesto en las tres cifras encontradas en la RFA en que la menor, de 0,23 ppm, corresponde a un estudio sobre población infantil.

El hecho de encontrar HCB en todas las muestras estudiadas y en esas proporciones, superiores a la media de los datos hallados en estudios similares en distintos países, permite suponer la existencia de una fuente de contacto o exposición al producto en nuestra región que debe ser detectada y controlada.

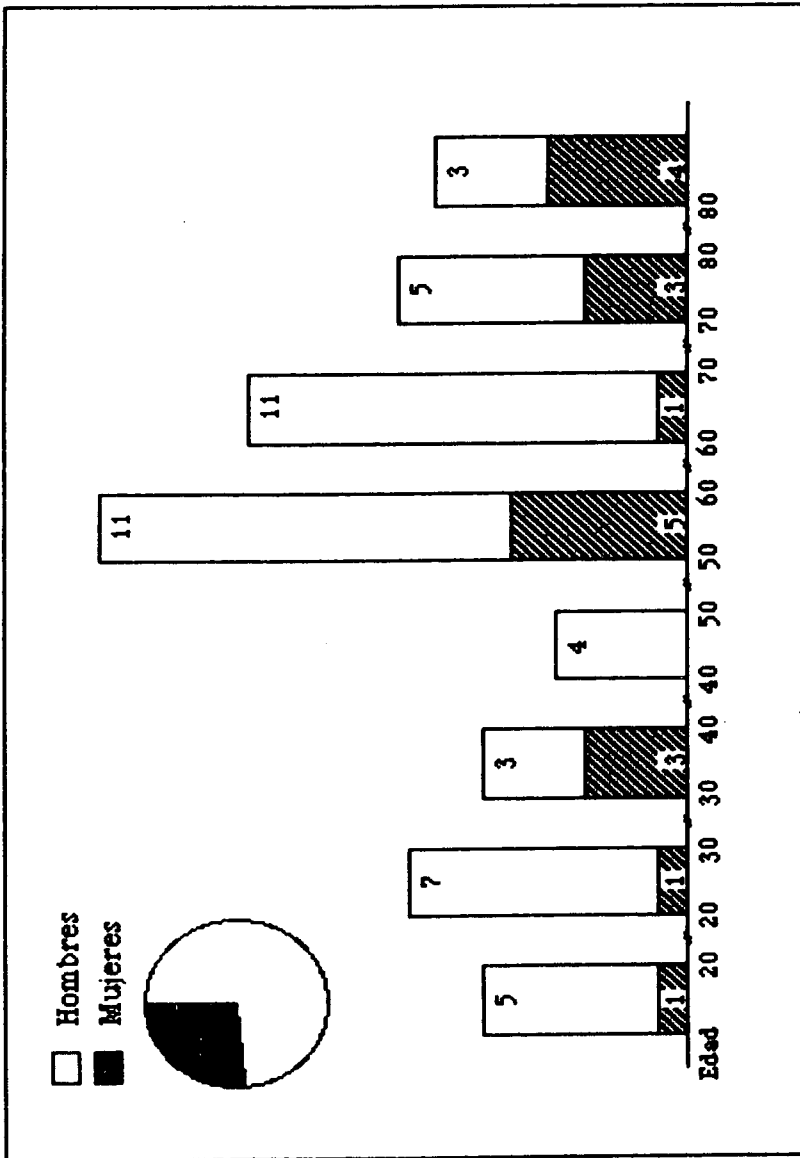
BIBLIOGRAFIA

1.- COURTNEY KD. Hexachlorobenzene (HCB): A Review. Environ Res, 1979. 20: 225-266.

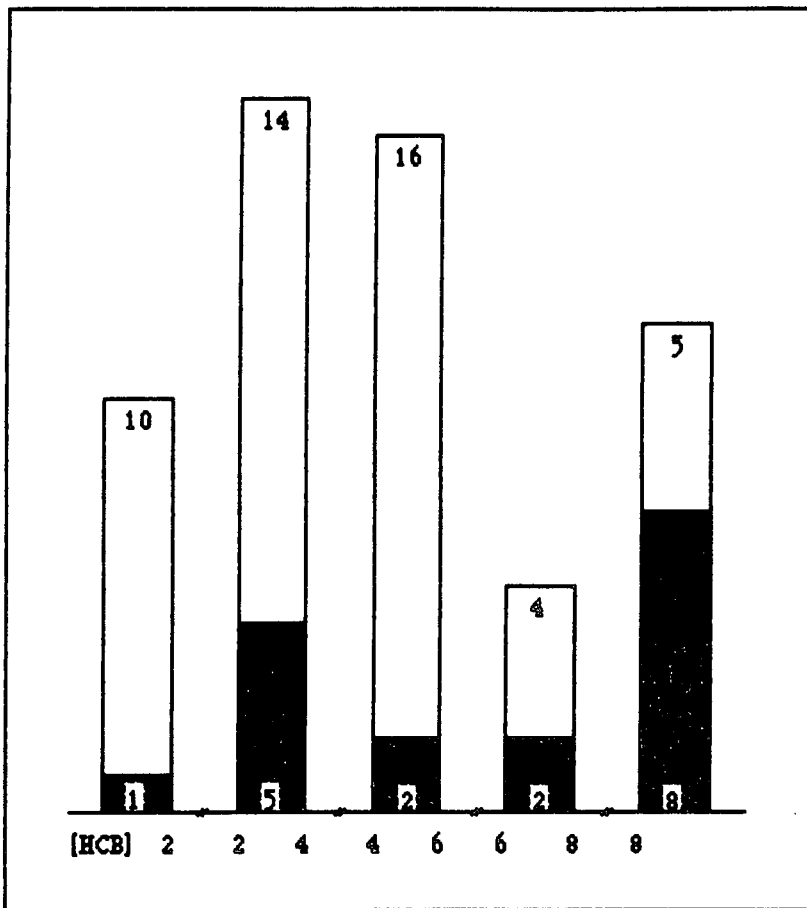
2.- ACKER L, SCHULTE E. Chlorierte kohlenwarsserstoffe in menschlichen Korper. Umschau, 1971. 71: 848.

- 3.- BRADY MN, SIYALI DS. Hexachlorobenzene in human body fat. Med. J. Aust., 1972. 1: 158-161.
- 4.- SIYALI MN, SIYALI DS. Chlorinated hydrocarbon pesticides in human blood and fat. Med. J. Aust., 1974. 1: 213-232.
- 5.- CURLEY A, BURSE V, JENNINGS R, VILLANEUVA E. Chlorinated hydrocarbon pesticides and related compounds in adipose tissue from people of Japan. Nature 1973. (London), 242: 338-340.
- 6.- VAN HOVE M, BRAUN M, FRANK R, STOPPS GJ, SMOUT MS, MCWADE JW. Canad J Pub Health, 1977. 68: 74-80.
- 7.- MORITA M, MIMURA S, OHI G, YAUJU H. A systematic determination of chlorinated benzenes in human adipose tissue. Environ Pollut, 1975. 9: 175-179.
- 8.- NIESSEN KH, RAMOLLA J, BINDER ET AL. Chlorinated Hydrocarbons in adipose tissue of infants and toddlers: Inventory and studies on their association with intake of mothers' milk. Eur J Pediatr. 1984. 142: 238-243.
- 9.- MUSSALO-RAUHAMAA H, PYYSALO H, MOLLAMEN R. Influence of diet and other factors on the levels of organochlorine compounds in human adipose tissue in Finland. J Toxicol Environ Health, 1984. 13: 689-704.
- 10.- BERTRAM HP, KEMPER FH, MULLER C. Hexachlorobenzene content in human whole blood and adipose tissue: experiences in environmental specimen banking. Pags. 173-182. En "HCB: Proceedings of and Internatinal Symposium". Ed. Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. IARC Sci Pub, Lyon. 1986.
- 11.- TO-FIGUERAS J, RODAMILANS M, GOMEZ J, CORBELLA J. Hexachlorobenzene residues in the general population of Barcelona (Spain). Pags. 147-148. En: "HCB: Proceedings of an International Symposium". Ed. Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. IARC Sci Pub. Lyon. 1986.

TABLA I



DISTRIBUCION DE LA MUESTRA SEGUN EDAD Y SEXO



RELACION DE LA CONCENTRACION DE HCB CON EL SEXO

TABLA 2

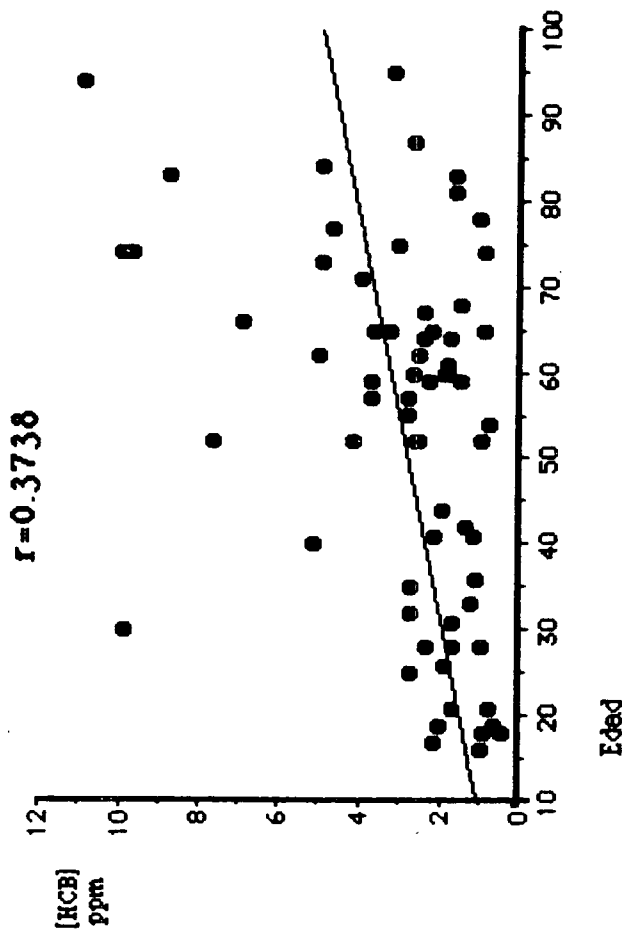


TABLA 3

SITUACION INDUSTRIAL DE ZARAGOZA

	CAPITAL	PROVINCIA
1.- Energía y Agua	6	28
2.- Extracción y transformación de minerales. Industria química	311	310
3.- Industrias transformadores del metal. Mecánica de precisión	1.038	601
4.- Otras industrias manufactureras	2.506	1.829
5.- Construcción	2.720	2.673

TABLA 4

POBLACION	(HCB)	REFERENCIA
RF Alemana	6,3 ppm	ACKER, SCHULTE (1970)
Papua, Nueva Guinea	0,26 ppm	BRADY, SIYALI (1972)
Australia	0,1-1 ppm (62%) + de 1 ppm (33%)	SIYALI (1973)
Japón	0,08 ppm	CURLEY (1973)
Canada	0,1 ppm	VAN HOVE (1974)
Tokio	0,21 ppm	MORITA (1975)
RF Alemana	0,23 ppm	NIESSEN (1984)
Finlandia	0,02 ppm	MUSSALO-RAUHAMAA (1984)
RF Alemana	6,3 ppm	BERTRAM (1985)
España (Barcelona)	5,55 ppm	TO (1985)

TABLA 5

CONTAMINACION POR ORGANOCLORADOS EN TEJIDO ADIPOSO HUMANO

J.B. MARTI LLORET (*); D. PRATS RICO (**); M.E. MAS SELLES (*).

(*) Departamento de Toxicología y Legislación Sanitaria.

(**) Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química. Universidad de Alicante.

RESUMEN

En el presente trabajo se han estudiado los residuos de los compuestos organoclorados presentes en tejido adiposo humano, mediante la técnica de cromatografía de gases.

Este tipo de contaminación procede de los vertidos industriales y de los residuos de los tratamientos fitosanitarios. Las propiedades que les dan su carácter de contaminantes son su extremada estabilidad, alta lipofilia y difícil biodegradabilidad, que favorecen su permanencia en los tejidos humanos, especialmente en el tejido adiposo.

En la presente comunicación se presentan los datos del análisis de trece muestras de tejido adiposo abdominal humano, siguiendo una línea de investigación sobre residuos organoclorados en medio ambiente y seres vivos. El grupo de los DDTs es el principal contaminante seguido del Hexaclorobenceno y los Bifenilos Policlorados. Aparecen residuos en el 100% de las muestras analizadas.

PALABRAS CLAVE: CONTAMINACION, ORGANOCLORADOS, TEJIDO ADIPOSO.

MATERIAL Y METODOS

La determinación analítica de los distintos compuestos organoclorados se ha llevado a cabo en la División de Toxicología y Legislación Sanitaria del Departamento de Salud Pública y en la División de Ingeniería Química del Departamento de Química Inorgánica e Ingeniería Química; ambos Departamentos de la Universidad de Alicante.

En el presente trabajo se han analizado trece muestras de tejido adiposo abdominal humano procedente de necropsias y de intervenciones quirúrgicas realizadas por motivos terapéuticos y en que, por sus características especiales, fue posible su obtención.

Las extracciones se realizaron durante el período comprendido entre el 11 de mayo y el 17 de junio de 1987.

De las trece muestras, ocho pertenecían a mujeres y cinco a varones.

Las edades estaban comprendidas entre 27 y 71 años, con una media de 45 años.

En cuanto a su ocupación laboral, seis trabajan en el hogar, cinco en el campo y el resto, uno es pintor y otro comerciante.

Todas las biopsias corresponden a personas cuyo lugar de domicilio habitual es la Provincia de Alicante.

Metódica utilizada.

a) Una vez extraídas las biopsias de tejido adiposo abdominal, se conservan a -20°C hasta el momento de su análisis.

El peso de las muestras procesadas oscila entre 1,6 y 4 gr, con una media de 2,87 gr.

Los productos químicos utilizados han sido suministrados por las casas Panreac y Chem Service con grado de pureza para análisis.

b) Extracción de la fase lipídica. En la etapa de extracción se lleva a cabo una disolución de la grasa en hexano, una vez triturado el tejido adiposo y puesto en contacto con este disolvente.

c) Purificación del extracto. Al extracto obtenido se le aplica un proceso de purificación o eliminación de la grasa mediante el tratamiento con ácido sulfúrico. Esta técnica se basa en la propiedad de este ácido para disolver la mayoría de compuestos orgánicos a excepción de los compuestos organoclorados.

d) Análisis cromatográfico. El análisis tanto cuantitativo como cualitativo del extracto purificado se ha llevado a cabo por cromatografía de gases dada su alta sensibilidad y especificidad.

Se ha utilizado un cromatógrafo de gases KONIK-2000 equipado con detector de captura electrónica e integrador de áreas. Se ha empleado una columna capilar S.G.E. Australia de 12 metros de longitud y 0,33 mm de diámetro interno y fase BP-10. Con esta columna se ha conseguido una separación óptima de los distintos picos del cromatograma. Como gas portador se ha empleado Helio y como gas de apoyo al detector de captura electrónica, el Argón-Metano.

La identificación de los distintos picos, así como su cuantificación se ha efectuado por comparación con un "standar externo". Se disponía de diversos patrones o "standars": grupo de los DDTs (DDE, DDD y DDT), Hexaclorobenceno, Lindano, Aldrín, Dieldrín, Heptaclor y Aroclor 1254 (Bifenilo policlorado).

Para identificar y cuantificar correctamente los compuestos de DDT y DDD, se ha dispuesto de una técnica adicional, como es la del tratamiento del extracto con potasa etanólica que transforma estos compuestos en DDE y por lo tanto desaparecen sus picos del cromatograma.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se presentan agrupados los datos obtenidos una vez procesadas las muestras. A cada una de ellas se le asignó un código en el que se especifica el sexo

(V, H), edad y la fecha de extracción de la biopsia (día/mes). Los resultados se expresan en mg/Kg de tejido procesado.

Para una mayor comodidad en la interpretación de los datos, se representan separados los datos correspondientes a varones de los de las mujeres y dentro de cada grupo ordenados de mayor a menor edad. Asimismo, se consigna el lugar de trabajo habitual.

Los compuestos organoclorados detectados en las biopsias de tejido adiposo humano analizadas son los siguientes: el grupo de los DDTs, el Hexaclorobenceno y los Bifenilos Policlorados.

El principal contaminante es el grupo de los DDTs. Dentro de este grupo la forma más abundante corresponde al DDE que normalmente representa más del 75% del total de DDTs. Esta forma corresponde al metabolito final de la principal vía de detoxificación del DDT en el organismo. Excepto en tres de las muestras, suelen estar presentes a la vez las tres formas de DDTs, es decir, DDT, DDD y DDE. El orden de magnitud del total de DDTs totales se halla entre un mínimo de 0,83 mg/Kg y un máximo de 35,1 mg/kg, con una media de 6,2 mg/kg.

El Hexaclorobenceno está presente en todas las muestras en concentraciones similares en todas ellas y con valores que oscilan entre 0,1 y 1,6 mg/kg, con una media de 0,83 mg/kg.

El orden de magnitud del Hexaclorobenceno es intermedio entre el total de DDTs y el total de bifenilos Policlorados (PCBs).

Los Bifenilos Policlorados se han encontrado en todas las muestras aunque en cantidades menores (menos de 1 mg/kg) excepto en una muestra en la que se han hallado 29,93 mg/kg.

DISCUSION

La presencia de los compuestos organoclorados en las muestras analizadas ha sido la siguiente: la mayor parte de la contaminación la constituyen los DDTs, seguidos por el Hexaclorobenceno y por último, los Bifenilos Policlorados.

Los niveles de DDTs totales obtenidos en este estudio son inferiores a los obtenidos en un estudio similar efectuado en Cataluña en 1980-81, en el que la media de DDTs se cifraba en 10 mg/kg mientras que en nuestro estudio se ha obtenido una media de 6,2 mg/kg (8).

En cuanto a la proporción de cada uno de los DDTs, el DDE también es el más abundante en el citado estudio. Esta elevada proporción del DDE se da asimismo, en estudios de contaminación de organoclorados en productos alimentarios (9), así como en organismos marinos (10) y en anátidas (11).

Los niveles de residuos de DDT totales en las muestras estudiadas alcanzan valores intermedios con los que presentan poblaciones de otros países (8).

Se ha hallado una relación en cuanto a la carga de contaminantes organoclorados y el lugar de trabajo ya que los trabajadores del campo han presentado las concentraciones más elevadas.

En cuanto a la edad se aprecia un incremento del total de contaminantes en las personas de mayor edad, aunque de forma algo grosera debida a la gran variabilidad de las características propias de cada donante: origen geográfico, dieta habitual, características fisiológicas y patológicas, etc.

En cuanto al sexo, los varones presentan en general, valores más elevados que las mujeres. Esta diferencia se puede explicar de dos formas: 1) por una mayor exposición en los varones debido a su trabajo en el campo, y 2) que la razón de que en las mujeres se den valores inferiores, puede deberse a la descarga que significa el parto y la lactancia, ya que estos compuestos se transmiten de la madre al hijo atravesando la barrera placentaria así como a través de la leche (8).

En líneas generales, los resultados obtenidos en las muestras de tejido adiposo no presentan un gran diferencia a nivel cualitativo aunque a nivel cuantitativo hay una gran variabilidad individual.

BIBLIOGRAFIA

1.- BOLETIN OFICIAL DEL ESTADO Nº 308 del 24 de Diciembre de 1975. ORDEN de 4 de Diciembre de 1975 por la que se restringe el uso de ciertos plaguicidas de elevada persistencia. Pag. 26.651.

2.- STOCKER HS, SEAGER SL. Química ambiental: contaminación del aire y del agua. Blume Ecología. 1981.

3.- CHAPMAN PM, ROMBERG GP, VIGERS GAJ. Water Pollution Control Federation. 54:292. 1982.

4.- DREISBACH RH. Manual de Toxicología Clínica. Manual Moderno. 1984.

5.- GISBERT CALABUIG JA. Medicina Legal y Toxicología. Fundación García Muñoz. Valencia, 1977.

6.- HERRERA SEBASTIAN A. Plaguicidas y Cáncer. Fundación Científica de la Asociación Española contra el cáncer y Caja Madrid. Informa XII-1986.

7.- VEIEROV D, AHARONSON N. Economic method for analysis of fluid milk for organochlorine residues at the 10 ppb level. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1980. 3:63.

8.- AGUILAR A, JOVER L, NADAL J. Contaminación por compuestos organoclorados en la población humana de Cataluña. Actas 1º Congreso Iberoamericano de Toxicología. 703-714. 1982.

9.- NADAL J, LLORENTE G, RUIZ X, MONTORI A, AGUILAR A, JOVER LL. Residuos organoclorados en productos alimentarios. Actas 1º Congreso Iberoamericano de Toxicología. 219-224. 1982.

10.- KILIKIDIS SD, PSOMAS JE, KAMRIANOS AP, PANETSOS AG. Monitoring of DDT, PCBs, and other organochlorines compounds in marine organisms from the North Aegean Sea. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 1981. 26: 496-501.

11.- LLORENTE G, RUIZ X, NADAL J. Compartimentación de los plaguicidas organoclorados en tres especies de anátidas procedentes del Delta del Ebro. Actas 1º Congreso Iberoamericano de Toxicología. 691-702. 1982.

TABLA

CONCENTRACIONES DE LOS DISTINTOS COMPUESTOS ORGANOCLORADOS.

MUESTRA	DDTs (mg/Kg)	HCB (mg/Kg)	PCBs (mg/Kg)	TOTAL (mg/Kg)	TRABAJO
V-71-20/5	6,55	1,02	0,12	7,69	EN EL CAMPO
V-66- 9/6	3,60	0,60	0,54	4,74	EN EL CAMPO
V-56-17/6	4,35	1,54	0,38	6,27	EN EL CAMPO
V-46-11/5	35,10	1,29	29,93	66,32	EN EL CAMPO
V-32- 9/6	1,07	0,11	0,07	1,25	PINTOR
H-53-11/5	0,93	0,15	0,04	1,12	EN EL HOGAR
H-48-25/5	3,35	1,08	0,63	5,06	EN EL HOGAR
H-47- 3/6	3,23	1,60	0,34	5,17	EN EL HOGAR
H-41- 4/6	12,29	1,14	0,40	13,83	EN EL CAMPO
H-37-26/5	3,31	0,44	0,12	3,87	EN EL HOGAR
H-37-11/6	2,34	0,41	0,63	3,38	COMERCIANTE
H-29-16/6	3,76	0,94	0,01	4,71	EN EL HOGAR
H-27-26/5	0,83	0,52	0,10	1,12	EN EL HOGAR

V = Varón

HCB = Hexaclorobenzeno

H = Hembra

PCBs = Bifenilos policlorados

**RESIDUOS DE HEXACLOROBENCENO EN EL TEJIDO ADIPOSEO DE LA
POBLACION DE CATALUNYA (1986-87)**

J. PLANAS, J. GOMEZ-CATALAN, J. TO-FIGUERAS, M. SABROSO, M. CAMPS, J. CORBELLA.

U.E.R. Medicina Legal, Laboral i Toxicologia. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona.

INTRODUCCION

La contaminación ambiental por residuos organoclorados ha recibido una atención creciente durante las últimas décadas debido a los efectos nocivos que estas sustancias pueden provocar sobre las especies animales y la salud humana. Estos residuos -insecticidas organoclorados, hexaclorobenceno (HCB), bifenilos policlorados, etc.- por su lenta biodegradación y elevada lipofilia se acumulan en aquellos tejidos y líquidos biológicos más ricos en lípidos. Las concentraciones presentes en el tejido adiposo y en la leche materna (Rogan et al.1986) se consideran los mejores índices de exposición y permiten evaluar el riesgo.

La presencia de niveles muy elevados de insecticidas organoclorados y, sobretodo de HCB, registrada en el tejido adiposo de la población del área metropolitana de Barcelona (To-Figueras et al.1985) y la incidencia de HCB en determinaciones séricas realizadas en la población de Barcelona (Gómez-Catalán et al.1987) justifican la práctica de nuevos estudios que orienten sobre el origen del HCB. Se han considerado distintas fuentes para explicar la presencia de HCB en el medio ambiente: su utilización como fungicida, subproducto en procesos industriales de cloración,

impureza en preparaciones comerciales de algunos pesticidas (Tobin 1986).

En este trabajo hemos determinado las concentraciones de HCB, y de otros contaminantes organoclorados, en el tejido adiposo de una muestra amplia de la población de Catalunya y evaluamos la influencia de diferentes factores sobre el grado de impregnación.

MATERIAL Y METODOS

Se determina la presencia de HCB en 290 muestras de tejido adiposo subcutáneo de la región abdominal. Estas muestras proceden de cuatro zonas bien diferenciadas de Catalunya:

- Barcelona y localidades de su cinturón industrial: se analizan 68 muestras obtenidas, algo más de la mitad, durante la práctica de autopsias clínicas en el Hospital de Sant Pau de Barcelona, y el resto procedentes de autopsias judiciales gracias a la colaboración de varios médicos forenses.

- Tarragona: estudiamos 85 muestras obtenidas durante intervenciones de cirugía general realizadas en el Hospital de la S.S. Joan XXIII de la ciudad de Tarragona.

- Lérida: analizamos 87 muestras procedentes de autopsias judiciales practicadas en el partido judicial de Lérida.

- Olot (Gerona): se estudian 50 biopsias de tejido adiposo cedidas por el servicio de cirugía del Hospital de Sant Jaume de esta localidad.

La procedencia de las muestras nos permite tener una información sobre la población general de Catalunya bastante equilibrada desde el punto de vista geográfico y podemos distinguir dos perfiles socioeconómicos bien diferenciados:

- Barcelona y Tarragona: zonas fundamentalmente industriales y urbanas.

- Lérida y Olot: localidades principalmente agrícolas y rurales. Lérida se encuentra ubicada en el centro de una

amplia comarca dedicada al cultivo de cereales y frutales. Olot es una ciudad de 20.000 habitantes, capital de una comarca prepirenaica, con una economía basada en la agricultura y la ganadería, aunque también cuenta con una notable industria papelera y textil.

El período de recolección de muestras comprende desde finales de 1985 hasta los primeros meses de 1988.

Una vez extraídas las muestras se colocan en recipientes individuales de vidrio y se mantienen congeladas a -30°C para evitar su deterioro hasta el momento del análisis. No se aplica ningún criterio previo en la selección de muestras.

Se recogen los siguientes datos sobre los donantes: edad y sexo. Sobre los donantes de Olot y Lérida disponemos de información complementaria: profesión, lugar de nacimiento, causa de muerte (Lérida), antecedentes patológicos (Olot) y tiempo de residencia en la localidad.

La extracción de HCB se realiza a partir de aproximadamente 0.5 g de tejido adiposo que se homogeneiza y deseca con sulfato sódico anhidro. Como disolvente utilizamos hexano. La purificación de los extractos se consigue mediante la adición de sulfúrico gota a gota (Veierov y Aharonson, 1978). Un alícuota del extracto se evapora bajo corriente de nitrógeno hasta constancia de peso para evaluar el extracto lipídico.

Para la determinación de HCB utilizamos un cromatógrafo de gases Varian 3700 equipado con detector de captura electrónica (ECD), columna empaquetada (2.5% OV-17, 1.95% OV-210 sobre supelcoport 100/200) y columna capilar (SPB-5, 30m long, 0.32 mm DI). Para la cuantificación añadimos aldrín como estándar interno.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se ha podido cuantificar HCB en todas las muestras analizadas. La concentración media de HCB ha sido 2.88 ± 1.74 ppm con valores extremos de 0.06 y 11.63 ppm (Tabla 1); estas concentraciones están referidas al extracto lipídico. La media de edad es de 53.28 años con un rango desde los 3

meses hasta los 95 años, predominando la población adulta debido a la fuente de suministro de muestras (necropsias y servicios de cirugía general).

Al desglosar los resultados por localidades estudiadas (Tabla 2), hay que destacar que la concentración hallada en la población de Barcelona es significativamente inferior a la de Tarragona ($p < 0.01$) y a la de Olot ($p < 0.02$), sin que haya diferencias significativas respecto a la edad de las cuatro poblaciones.

Todos los cálculos estadísticos de este estudio se han hecho sobre la transformación logarítmica de las concentraciones ya que así obtenemos un histograma que se ajusta mejor a la distribución normal. Por ello consideramos la media geométrica un índice estadístico mejor que la media aritmética ya que ésta sobreestima el valor de tendencia central.

En la tabla 3 se muestran las concentraciones de HCB correspondientes a cada sexo. La media en las hembras (3.27 ppm) es superior a la de los varones (2.65 ppm) con un nivel de significación $p < 0.01$, sin diferencias significativas de edad entre ambos grupos. La presencia de concentraciones más elevadas en hembras ya ha sido descrita por varios autores (Abbott et al.1985) pero también existen estudios que muestran resultados opuestos (Dejonckheer et al.1978; Mori et al.1983). En las cuatro áreas estudiadas se observa la mayor concentración de HCB en hembras, pero las diferencias únicamente son significativas en la población de Barcelona ($p < 0.01$), y al considerar la población global de Catalunya.

Las concentraciones de HCB en el tejido adiposo, como ocurre con muchos residuos organoclorados, aumentan con la edad (Bertram et al.1986). En este estudio se confirma este hecho (Fig.1) con un coeficiente de correlación edad/concentración de HCB de 0.60, lo que da un nivel de significación $p < 0.01$.

En este trabajo, además de determinar la presencia de HCB, hemos analizado las concentraciones de los siguientes residuos organoclorados: HCH (isómeros β y γ), dieldrín, pp'DDT y los metabolitos de éste, pp'DDE y pp'DDD. Los resultados se exponen en la tabla 4 y las concentraciones, como en el caso del HCB, están referidas al extracto

lipídico. Los contaminantes organoclorados mayoritarios son el β -HCH ($x= 1.98$ ppm), pp'DDT ($x= 1.24$ ppm) y el pp'DDE que presenta la concentración más elevada ($x= 5.93$ ppm). Todos estos residuos se han encontrado en el 100% de muestras pero el pp'DDD solamente se ha podido cuantificar en el 77% de ellas.

Hemos calculado los coeficientes de correlación entre el HCB y los restantes organoclorados mayoritarios (pp'DDE, β -HCH y pp'DDT), obteniendo unos coeficientes de 0.505, 0.659 y 0.370, respectivamente, lo que nos da un nivel de significación en los tres casos $p<0.01$. Como cada uno de estos residuos correlaciona con la edad, hemos recalculado estos coeficientes corrigiendo la influencia del factor edad. Los nuevos coeficientes, aunque han disminuido, siguen manteniendo el mismo nivel de significación. Este hecho sugiere una vía de entrada común al organismo de todos estos residuos.

En los años 1982-83 nuestro departamento realizó un estudio similar al actual, limitado a la población de Barcelona, y con muestras procedentes de autopsias judiciales (To-Figueras et al.1985). La concentración media de HCB en aquel estudio fue de 5.6 ppm, encontrándose entre las más altas de las reportadas en la bibliografía mundial. En el estudio actual los valores de HCB en la población de Barcelona han disminuido notablemente (2.42 ppm) sin que haya diferencias significativas de edad entre ambas poblaciones. Aunque actualmente el estudio se ha hecho con un porcentaje importante de muestras de autopsias clínicas, lo que dificulta las comparaciones con el estudio de 1982, realmente creemos que esta disminución no se debe a un artificio metodológico. Además, en un estudio aún muy preliminar, sobre la presencia de este contaminante en diferentes alimentos hemos constatado una sensible disminución de niveles respecto a los hallados hace cinco años.

En la Fig.2 mostramos una revisión bibliográfica sobre las concentraciones de HCB en tejido adiposo de distintas poblaciones. Destacan las cifras muy elevadas en nuestra población respecto a la mayoría de poblaciones europeas y americanas, únicamente comparables a los valores registrados en Italia (Focardi et al.1986) y bastante inferiores a las registradas en Alemania en 1974 (citado por Abbott et al.1981).

Consideramos necesario realizar periódicamente estudios similares que permitan ampliar conocimientos sobre la exposición y acumulación de residuos organoclorados en diferentes tejidos humanos.

BIBLIOGRAFIA

1.- ABBOTT DC, COLLINS GB, GOULDING R, HOODLESS RA. Organochlorine pesticide residues in human fat in the United Kingdom 1976-77. Br Med J. 1981. 283:1425-1428.

2.- ABBOTT DC, GOULDING R, HOLMES DC, HOODLESS RA. Organochlorine pesticide residues in human fat in the United Kingdom 1982-1983. Human Toxicol. 1985. 4:435-445.

3.- BERTRAM HP, KEMPER FH, MÜLLER C. Hexachlorobenzene content in human whole blood and adipose tissue: experiences in environmental specimen banking. In: Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (ed) "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". IARC Scientific Publications Nº 77. Lyon. p 173-182. 1985.

4.- DEJONCKHEERE W, STEURBAUT W, VERSTRAETEN R, KIPS RH. Residues of organochlorine pesticides in human fat in Belgium. Toxicol Eur Res. 1978. 2:93-98.

5.- FOCARDI S, FOSSI C, LEONZIO C, ROMEI R. PCB congeners, hexachlorobenzene and organochlorine insecticides in human fat in Italy. Bull Environ Contam Toxicol. 1986. 36:644-650.

6.- GOMEZ-CATALAN J, TO-FIGUERAS J, PLANAS J, RODAMILANS M, CORBELLA J. Pentachlorophenol and hexachlorobenzene in serum and urine of the population of Barcelona. Human Toxicol. 1987. 6:397-400.

7.- MORI Y, KIKUTA M, OKINAGA E, OKURA T. Levels of PCBs and organochlorine pesticide residues in human adipose tissue collected in Ehime Prefecture. Bull Environ Contam Toxicol. 1983. 30: 74-79.

8.- ROGAN WJ, GLADEN BC, MCKINNEY JD. ET AL. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and dichlorodiphenyl dichloroethane (DDE) in human milk: effects of maternal factors and previous lactation. Am J Public Health. 1986. 76:172-177.

9.- TO-FIGUERAS J, RODAMILANS M, GOMEZ-CATALAN J, CORBELLA J. Hexachlorobenzene residues in the general population of Barcelona, Spain. In: Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (ed) "Hexachlorobenzene: Proceedings of an International Symposium". IARC Scientific Publications N° 77. Lyon. p 147. 1986.

10.- VEIEROV D, AHARONSON N. Simplified fat extraction with sulfuric acid as cleanup procedure for residue determination of chlorinated hydrocarbons. J Assoc Off Anal Chem. 1978. 61:253-260.

TABLAS

Tabla I

HCB EN TEJIDO ADIPOSO DE LA POBLACION DE CATALUNYA.

	\bar{X}	SD	M.G.	N	RANGO
HCB	2.88	1.74	2.40	290	.06-11.63
EDAD	53.28	21.07	46.24	284	.3-95

Tabla II

HCB: ANALISIS ESTADISTICO POR LOCALIDADES

	\bar{X}	SD	M.G.	N	RANGO
BARCELONA	2.42	1.34	1.95	68	.15-5.68
TARRAGONA	3.00	1.46	2.68	85	.47-8.84
LERIDA	2.99	2.24	2.37	87	.06-11.63
OLOT	3.11	1.60	2.71	50	.70-7.83

Tabla III

HCB: ANALISIS ESTADISTICO DE LAS CONCENTRACIONES SEGUN EL SEXO.

	\bar{X}	SD	M.G.	N	RANGO
VARONES	2.65	1.70	2.19	167	.06-10.38
HEMRAS	3.27	1.73	2.85	118	.39-11.63

Tabla IV

CONCENTRACIONES DE OTROS RESIDUOS ORGANOCORADOS EN TEJIDO ADIPOSE DE LA POBLACION DE CATALUNYA.

	\bar{X}	SD	M.G.	N
g-HCH	.065	.042	.054	290
b-HCH	1.98	3.02	1.33	290
pp'DDT	1.24	.83	1.00	290
pp'DDE	5.93	5.55	3.60	290
pp'DDD	.052	.060	.032	223
DIELDRIN	.066	.070	.043	236

MEDIAS ARITMETICAS DE HCB SEGUN GRUPOS DE EDAD

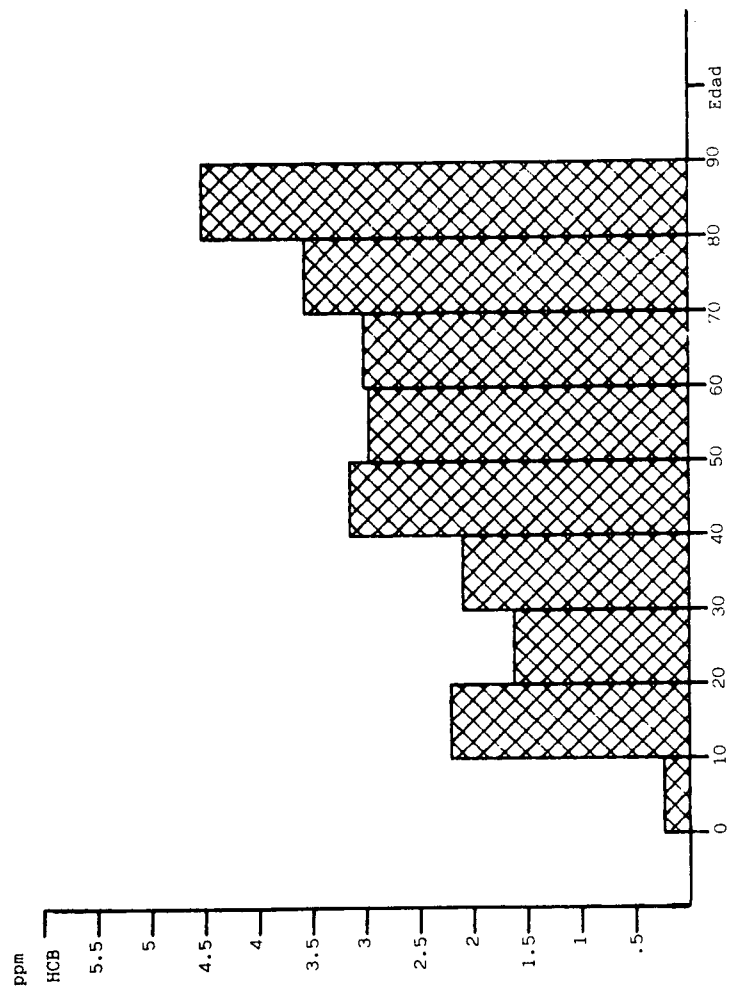


Figura 1

HCB EN TEJIDO ADIPOSEO: REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

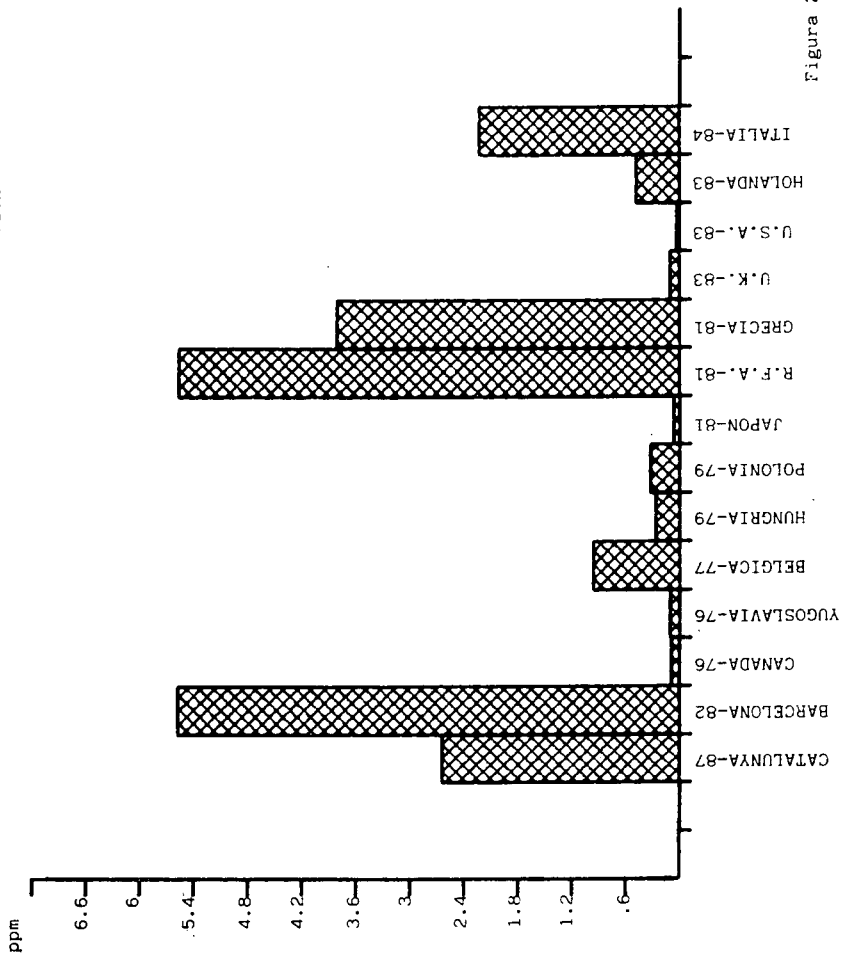


Figura 2

HEXACLOROBENCENO EN LECHE DE MADRES ESPAÑOLAS

C. CONDE (*), M.L. CABELLO (**), C. MALUENDA (***), M. MORO (***), A. MASSO (****).

- (*) Hospital Universitario de San Carlos. Madrid.
- (**) Hospital Infantil de la FE de Valencia.
- (***) Servicio de Neonatología del H.C. de Madrid.
- (****) Hospital de San Juan de Dios de Barcelona.

HEXACLOROBENCENO EN LECHE HUMANA

En 1951 se demostró por primera vez la presencia de DDT en leche de mujeres sanas, negras, americanas. A partir de entonces se extendió a todos los países el estudio de pesticidas organoclorados en leche humana. Del conjunto de compuestos organoclorados presentes en la leche, sobresalen, por orden de concentración en la misma, los difenilos policlorados (PCB,s), el pp'-DDE, y el hexaclorobenceno (HCB).

El HCB es uno de los compuestos organoclorados más persistentes. Su presencia en la leche se conoció como consecuencia de un accidente ocurrido en Turquía en 1959, en el cual se produjo una gravísima intoxicación masiva como consecuencia del consumo de pan hecho con harina contaminada con HCB. Se evidenció que el niño puede ser fatalmente intoxicado por la leche de la madre contaminada. En aquella ocasión solamente se estudió una muestra de leche de una madre afectada, en la cual se hallaron 700 ppb de HCB. Pasados 25 años se estudió leche de madres de aquella zona, la cual estaba fuertemente contaminada.

La presencia de HCB como contaminante habitual de la leche humana se descubrió en 1970, poco después de que se

demostrase en mariscos, pescados y aves. Su concentración, comparable a la del DDE sorprendió por lo inesperada, pues su empleo no había sido generalizado como el del DDT.

Hoy se considera como contaminantes de la sociedad industrializada los PCB,s y el HCB, los cuales muestran afinidades de absorción, metabolismo, afinidad por la grasa, origen industrial y posiblemente acción sinérgica.

Presentamos aquí la técnica empleada en un estudio de pesticidas organoclorados, llevada a cabo en diversas comunidades españolas y los valores de HCB hallados en el mismo.

MATERIAL Y METODOS

Material de vidrio y reactivos.

Los solventes orgánicos eran de Merck Darmstadt en su totalidad.

El Florisil de Serva y el Sulfato Sódico de Merck Darmstadt.

El material de vidrio y los reactivos se sometieron a todos los requisitos de descontaminación y destilación descritos en las técnicas de estudio de pesticidas.

El Florisil se calcinó a 500 grados y se conservó en sitio seco.

La noche antes de su uso se mantenía a 120 grados.

Aparatos.

Se empleo un sistema de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas-Ordenador HP 5985 consistente en:

- Un cromatógrafo de gases HP 7906.
- Un ordenador HP MX-E.
- Un disco HP 12940 en un Drive HP 7906.
- Un terminal gráfico 2648A.
- Una copiadora 9876A.

Se utilizó un sistema de inyección "splitless" con desviación del gas portador durante 0.8 minutos y condensación de la muestra en la cabeza de la columna a una temperatura inicial de 50°C.

Se empleó una columna capilar de 25 metros OV 101 acoplada directamente a la fuente de iones.

Muestras.

Las muestras de leche se obtuvieron por extracción con sacaleches o por expresión manual. La leche de ambos pechos se recogía directamente sobre un recipiente esterilizado, separando una alícuota de 10-20 ml, en frasco estéril, la cual se congelaba inmediatamente y se mantenía congelada hasta su envío al laboratorio en un período de tiempo no superior a 48 horas desde la extracción. En el laboratorio las muestras se trataban inmediatamente.

Cada muestra iba acompañada de un cuestionario con datos sobre la fecha del parto y características del mismo, edad de la madre, peso, eventual pérdida de peso, hábitos dietéticos, si era fumadora en que cantidad, eventual uso de pesticidas domiciliarios, profesión, profesión del marido, número de hijos y número y duración de lactancias anteriores. Todas las madres habían vivido en las zonas estudiadas más de 8 años y las de las zonas rurales, toda la vida.

En las zonas agrícolas se recogió información sobre el tipo de cultivo, características del mismo y mayor o menor contacto de las mujeres con las faenas agrícolas.

Método.

Extracción de la grasa. 10 ml de leche se añadían agitando sobre 200 ml de CL: M 2/1. Se sacudía el matraz durante una hora, se añadían 40 ml de solución salina y se conservaba en nevera durante la noche. Separada la fase superior se evaporaba en rotavapor a 40°C. La grasa depositada se recogía disuelta en hexano mezclando con solución salina y separando la capa transparente de hexano separada por centrifugación, en varias veces. El hexano se evaporaba bajo nitrógeno y la grasa se pesaba. Después de pesada se disolvía en 5 ml de hexano.

Purificación. Se hacía en columna de florisil en hexano con una capa de sulfato sódico, calcinado y desecado del mismo modo que el florisil. La proporción era de 5 gr. de florisil por 100 mg de grasa. La elución se hacía con hexano: diclorometano 4/1. El eluido se evaporaba muy cuidadosamente en rotavapor hasta un volumen de 20-30 ml, que se llevaban a un volumen final de 1 ml bajo nitrógeno.

Cromatografía. Se partía de una temperatura inicial de 50°C y velocidad de subida de 6° min. hasta 250°C. La temperatura de las líneas era de 250°C y la de la fuente de iones de 200°C. Los compuestos de este estudio se eluían entre los 18 min. del alfa-Hexaclorohexano (HCH) y los 31 min. del pp'-DDT. Se utilizaron los siguientes estandars: alfa, beta, gamma (lindano) y delta HCH, heptaclor, heptaclor epóxido, aldrin, dieldrin, endrin, op'-DDE, op'-DDD, op'-DDT, pp'-DDE, pp'-DDD y pp'-DDT. Se comprobaron sus tiempos de retención y se obtuvieron sus espectros característicos utilizando una mezcla con 20 ng de cada uno, y empleando un barrido de masas entre 100 y 300 m/z. a 1800 ev. Esta operación se repitió periódicamente a lo largo de todo el trabajo.

En este trabajo se utilizó como estandar interno heptaclor que es un contaminante presente en las muestras en algunos países y que nosotros no encontramos nunca, tal vez porque está en proporciones inferiores a las necesarias para la sensibilidad de nuestro método.

La razón del empleo de este estandar es puramente técnica, pues tiene un tiempo de retención medio entre los del alfa-HCH y el pp'-DDT, así como una señal del ión seleccionado para la medición (m/z 272) muy reproducible. Los resultados obtenidos utilizando heptaclor como estandar interno fueron muy superiores en reproductibilidad a los obtenidos con los estandars recomendados en la literatura para la detección con captura de electrones.

Cuantificación. Se hizo por fragmentografía en la cual la medida de seis masas sustituyó el barrido entre masas 100 y 300, con lo cual la sensibilidad aumentó y se pudieron hacer medidas reproducibles en cantidades equivalentes a 1mg de grasa en 1ul, concentración a la cual el ruido es mínimo. La cantidad de estandar (heptaclor) añadida era de 500 picogramos/ul. Con esta técnica hemos obtenido lecturas reproducibles a partir de 100 picogramos.

Las masas utilizadas para la obtención de los factores de respuesta fueron:

- Para los isómeros de Hexaclorhexano ión m/z 181 y 219
- Para Hexaclorobenceno ión m/z 284 (pico M + más 2)
- Para DDD y DDT (op' y pp') ión m/z 235
- Para DDE (op' y pp') ión m/z 246
- Para heptaclor (estandar interno) ión m/z 272
- Para heptaclor epóxido ión m/z 353

La mezcla de estandars tenía 500 picogramos por mml de cada uno. Para la medida de la muestra se tomaba una alícuota equivalente a 50 mg de grasa de la solución en hexano, se añadían 50 mml de la solución de estandar interno de 500pg/mml, en tubo especial concentraba con nitrógeno hasta 50mml. Se utilizaba para la inyección lul que contenía el equivalente de 1mg de grasa de la muestra y 500 picogramos de estandar interno.

Las masas utilizadas para la medición eran:

- 181 y 219 para lindano y demás HCH.
- 284 para el Hexaclorobenceno.
- 272 para el estandar interno.
- 246 para el pp'-DDE.
- 235 para pp'-DDT y pp'-DDD.

Los factores de respuesta se comprobaban todos los días antes y después de la inyección de las muestras que se estudiaban por triplicado.

Previa a la medición se hacía una fragmentografía de la muestra, en la misma proporción pero sin estandar interno. En ella se medían los picos:

- 181 y 219 para isómeros de HCH.
- 284 para Hexaclorobenceno.
- 272 para heptaclor.
- 246 para DDE.
- 353 para heptaclor epóxido.
- 263 para Aldrin, dieldrin y endrin.

Esta medición nos permitió excluir en todos los casos la presencia de heptaclor, heptaclor epóxido, aldrín, dieldrín y endrín.

Se presentaban los valores de HCB hallados en 240 muestras de leche humana.

En Madrid se estudió un primer grupo en 1984 que contenía 45 muestras de las cuales 25 eran de calostro y 20 de leche madura del primer mes. La finalidad de este doble muestreo era obtener valores comparativos para los dos tipos de leche, sabiendo que en determinados lugares, como hospitales, la recogida sería más fácil en los primeros días, en tanto que en los medios rurales siempre se obtendría leche madura. En 1987 se recogieron 18 muestras más para poder detectar una eventual variación atribuible a cambio de sensibilidad en la metodología. Las madres vivían en el centro de la capital y eran de clase media. Tenían una edad media de 26 años. 29 madres eran primíparas, en 26 casos se trataba del segundo hijo, tres madres tenían tres hijos y el resto más de tres. Había 24 fumadoras, ninguna en grado intenso. En general su nivel de vida era bueno, sus dietas eran mixtas, buen estado nutricional y según la encuesta sus viviendas aceptables. En ningún caso se cita abuso de insecticidas domésticos. La mayoría de las madres incluidas en el estudio había residido en Madrid toda la vida, siendo la residencia más corta de 10 años. La media de HCB en leche madura fue de 1.096 ppm s.d. = 0.653 y 1.115 ppm s.d.=0.717 en 1984 y en 1987 respectivamente. Las muestras de calostro presentaban una media de 0.995 ppm s.d. = 0.721.

En Valencia se recogieron 45 muestras de leche madura, las madres habían residido en la zona al menos desde 8 años antes. Dicha zona está ubicada en la periferia de la ciudad, tiene una agricultura de exportación cooperativizada y muy controlada. Las madres participaban en muy escasa proporción en las tareas agrícolas. Había industria de ensamblaje de muebles y no había industria pesada. La edad media de las madres era de 27 años. En cuatro casos se trataba del tercer hijo, en 12 casos era el segundo hijo y las restantes eran primíparas. En su mayoría no fumadoras. Sus hábitos alimenticios eran semejantes a los de las madres de Madrid y del resto de los grupos aquí presentados. Los valores medios de este grupo eran $m = 0.925$ ppm s.d. = 0.524.

Las muestras de Pamplona proceden de varios puntos y se pueden considerar como representativas de toda Navarra. Una característica de estas madres era la posesión en un alto número de casos de huertos para el consumo familiar con

participación de algunas de ellas en el cuidado de los mismos. En las zonas en que se recogieron las muestras alterna una agricultura mixta con industria de papel, construcción, madera y conserva. El 60% de las madres eran primíparas, tres madres tenían tres hijos y el resto dos hijos. Muy pocas madres eran fumadoras y estas en escasa cantidad. El valor medio de HCB era de 1.709 ppm s.d.= 0.903.

Las 18 muestras de Barcelona proceden de madres residentes en la zona industrial de Llobregat, en la cual al lado de una agricultura mixta incontrolada existe una gran concentración de industria pesada. Las características individuales de estas madres no difieren de las de otros grupos, poco fumadoras, edad media 28 años, cuatro madres tenían tres hijos y el resto uno o dos hijos. El valor medio de HCB era de 2.619 ppm s.d. = 1.80.

Las 19 muestras de Bilbao han sido recogidas en zonas de industria pesada y agricultura poco controlada. En Bilbao, como en Barcelona existen fábricas de pesticidas. Solamente una madre tenía tres hijos y las demás uno o dos hijos. El valor medio de HCB era de 3.185 ppm s.d. = 1.68.

Se estudiaron tres pequeñas comunidades del centro del país, exclusivamente agrícolas y muy alejadas de las zonas industriales. Son San Esteban Gormáz, Arévalo y Pedro Bernardo.

Pedro Bernardo corresponde a una pequeña comunidad de pueblos con cultivo de regadío poco desarrollado. La media de HCB era de 1.330 ppm s.d. = 0.502.

San Esteban Gormáz tiene cultivo de cereales, un silo y antecedentes de pequeñas industrias familiares sobre el río Duero. Las madres, residentes en la zona toda su vida, lo mismo que las madres de todas estas pequeñas comunidades, tenían un nivel de viviendas y regimen de comidas semejantes a los del resto del estudio, no fumaban ni trabajaban en el campo. En el estudio correspondiente a 1984 se incluyeron 11 muestras, de las cuales 5 correspondían a primíparas, 1 a un cuarto hijo y el resto a dos hijos. El estudio de 1987 contenía 12 muestras de las cuales ocho pertenecían a primíparas. las medias eran de 4,990 ppm s.d. = 1.411 en 1984 y de 3.743 ppm s.d. = 1.93 en 1987.

Arévalo, pueblo de cultivo de grano, con un silo sin río y con graves problemas de abastecimiento de agua, contribuyó con 13 muestras de una media de 2.272 ppm s.d. 1.258.

RESULTADOS

Nuestros valores de HCB, que son muy altos con respecto a los que presentan otros países industrializados, sugieren que existe un patrón, cuya media es aproximadamente 1 ppm, que es el que presentan Madrid, como zona urbana clásica, Valencia, con huerta muy controlada y el grupo Pedro Bernardo, que corresponde a una pequeña comunidad rural con cultivo de regadío. Una media significativamente diferente, sobre 2 ppm, es la que ofrecen otras comunidades, entre las que sobresale San Esteban Gormáz comunidad cerealista, y se incluyen dos zona industriales, Barcelona (2.6 ppm) y Bilbao (3.2 ppm) y una zona rural con cultivo de grano, Arévalo (2.2 ppm). Pamplona presenta un valor intermedio, (1.7).

No existían diferencias significativas entre los tres grupos correspondientes a Madrid (calostro y leche madura de 1984 y leche madura de 1987), ni entre Madrid y Valencia (leche madura) ni entre Bilbao y Barcelona (calostro). La muestra de Pamplona es significativamente diferente de la muestra de Valencia ($p < 0,001$), de Bilbao ($p < 0,001$) y de Barcelona ($p < 0,01$). Estos valores representan las diferencias existentes entre una zona clásicamente urbana y los dos centros industriales más importantes del país.

Los grupos correspondientes a zonas rurales (Pedro Bernardo, San Esteban Gormáz y Arévalo) están escasamente representados para poder compararlos estadísticamente. Pedro Bernardo es un zona de huerta y presenta una media ostensiblemente más baja que las otras dos comunidades, y comparable a la de Valencia. Arévalo y San Esteban Gormáz son dos pueblos típicamente cerealistas y se diferencian entre sí por la existencia de un río importante en el segundo. Dada la dispersión existente, el número de muestras necesario para un estudio estadístico sería imposible de obtener en zonas tan despobladas como son las estudiadas. Probablemente San Esteban Gormáz no tiene diferencias significativas entre sus dos muestras (1984 y 1987) ni es particularmente distinto de Arévalo y está dentro de un patrón que corresponde a una

situación específica de las comunidades con cultivo de grano en las que posiblemente habría que considerar la influencia que pueda tener la existencia de silos y de ríos además de las características de cultivo. Lo que sí parece muy probable es que en un estudio que abarque un gran número de pequeñas comunidades se encuentre una diferencia significativa entre las zonas de cereales y las zonas de huerta.

Es sorprendente que un contaminante como el HCB, considerado como típicamente industrial, se encuentre en tan elevada concentración en zonas rurales muy alejadas de los centros industriales del país. Una amplia investigación rural unida a la de zonas costeras, todavía no estudiadas, puede constituir una base muy útil para la investigación de las fuentes de contaminación.

No se han encontrado relaciones entre los parámetros incluidos en los cuestionarios y las concentraciones individuales de HCB, lo cual era de esperar ya que los grupos se constituyeron preferentemente en relación a variaciones geográficas. No había grandes fumadoras, la alimentación y la edad eran muy semejantes en todos los grupos y una gran mayoría de las madres tenían uno o dos hijos, siendo el número de lactancias el parámetro más importante después de la residencia, que en todos los casos era mayor de 8 años, y en la mayoría de toda la vida.

En cuanto a los estudios anteriores en España es de destacar que en 1977 Villar (1) halló valores de 3,5ppm en leche de madres cordobesas. Otros estudios de compuestos organoclorados dan el HCB como no detectable (2) o no lo mencionan (3). Un estudio comparable al nuestro es el de To Figueras, (4) hecho en tejido adiposo en Barcelona.

Los valores internacionales anteriores a 1982 están recogidos en una revisión muy completa de Jensen (5). Los países escandinavos constituyen un grupo en el cual los valores de HCB se han mantenido siempre por debajo de 0.2ppm. Las últimas publicaciones de Noruega (6), Suecia (7) y Finlandia (8) dan valores medios de 0.1ppm. En Francia, (9) la media en 1975 era 0.98ppm, que nosotros sepamos no hay publicaciones más recientes. La información sobre el Reino Unido es muy escasa. Es diferente el caso de Alemania, en la que existen una serie de publicaciones (10, 11, 12) que presentan valores de HCB descendentes de 5ppm (año 1975)

hasta 0.8ppm (año 1980). Una última publicación de Acker (13) destaca una media de 1.5ppm.

Los valores hallados por nosotros en leche humana y por To en tejido adiposo, demuestran que estamos en una situación comparable a la que presentaban los restantes países europeos hace 10 años, situación que al parecer compartimos con Alemania. Es un hecho que no se debe menospreciar dado el interés que el HCB ha despertado recientemente en la Comunidad Europea debido a un aparente aumento de la contaminación por el mismo en los últimos dos años.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- VILLAR L. Rev Esp Pediat. 1976. 35: 271.
- 2.- TRIGO D. Y COLS. Quimica Análitica. 1976. 5: 30. 319.
- 3.- BALUJA L. Y COLS. Bull Environm Contam Toxicol. 1982. 28: 573.
- 4.- TO-FIGUERAS J. "Proceedings of an International Symposium". IARC Scientific Publications Nº 77. Lyon. 1986.
- 5.- JENSEN A. Residues Reviews ed F A Gunther Springer. 1983.
- 6.- SKAARE JU. Acta Pharmacol Toxicol. 1981. 49: 384.
- 7.- NOREN K. Acta Paediat Scan. 1983. 72: 811.
- 8.- WICKSTROM K. Y COLS. Bull Envirom Contam Toxicol. 1983. 31: 251.
- 9.- LUQUET FM. Lait. 1975. 55: 207.
- 10.- ACKER L. Ernahrungsforschung. 1971. 16: 559.
- 11.- RAPPL A. Y COLS. Dtsch Med Wschr. 1975. 100: 228.
- 12.- HEESCHE W. Y COLS. N Eng J Med. 1981. 304: 792.
- 13.- ACKER L. Geburtsch u Fraueneilk. 1.981. 41: 424.

TABLA I

HCB en 240 muestras de leche humana en mmg/g de grasa (ppm).

Madrid. 1984. Calostro nº 25

1	1.299	10	0.447	19	0.790
2	0.717	11	0.194	20	0.602
3	0.306	12	0.564	21	1.161
4	2.837	13	0.774	22	1.735
5	0.960	14	0.630	23	2.419
6	0.294	15	0.623	24	0.512
7	1.297	16	0.799	25	2.364
8	0.824	17	0.628		
9	0.219	18	1.832		

m 0.995

s.d. 0.721

min 0.194

max 2.837

Madrid 1984 1º mes nº 20

1	0.339	8	1.457	15	0.984
2	2.127	9	2.030	16	1.036
3	1.100	10	0.658	17	0.679
4	0.628	11	0.565	18	0.430
5	0.600	12	2.011	19	0.500
6	2.134	13	0.364	20	2.137
7	1.065	14	1.077		

8 m 1.096

s.d 0.653

min 0.364

max 2.137

TABLA II

Madrid 1987 1º mes nº 18					
1	0.319	7	1.168	13	0.366
2	2.208	8	0.517	14	1.018
3	0.216	9	2.060	15	0.450
4	0.555	10	1.126	16	0.500
5	1.907	11	2.034	17	2.127
6	1.843	12	0.965	18	0.698
		m	1.116		
		s.d.	0.717		
		min	0.216		
		max	2.208		

Valencia 1986 1º mes nº 45					
1	0.629	16	0.857	31	0.500
2	0.390	17	0.432	32	1.025
3	1.073	18	0.621	33	0.638
4	0.357	19	2.126	34	0.729
5	0.905	20	0.750	35	0.350
6	0.355	21	0.904	36	0.902
7	0.802	22	1.557	37	1.018
8	0.353	23	1.409	38	0.760
9	2.010	24	0.618	39	0.757
10	1.038	25	1.037	40	2.326
11	0.435	26	1.121	41	1.055
12	0.898	27	0.456	42	1.006
13	0.660	28	2.067	43	0.309
14	0.381	29	0.944	44	0.995
15	1.855	30	1.730	45	0.408
		m	0.925		
		s.d.	0.524		
		min	0.309		
		max	2.326		

TABLE III

Pamplona 1987 calostro nº 46

1	1.536	17	3.429	33	1.812
2	0.651	18	2.037	34	2.053
3	3.140	19	0.693	35	2.056
4	2.073	20	3.021	36	2.484
5	1.077	21	2.448	37	0.732
6	2.238	22	0.463	38	0.900
7	0.700	23	0.936	39	1.516
8	0.328	24	2.194	40	1.073
9	1.200	25	2.171	41	3.434
10	0.735	26	2.979	42	3.017
11	2.320	27	1.094	43	1.905
12	0.642	28	2.011	44	0.614
13	1.030	29	2.448	45	0.867
14	1.286	30	1.717	46	1.539
15	0.664	31	2.991		
16	1.157	32	3.221		

m 1.709

s.d. 0.903

min 0.463

max 3.434

Barcelona 1987 calostro nº 18

1	1.392	7	2.929	13	2.927
2	1.689	8	1.514	14	7.963
3	0.867	9	2.318	15	4.462
4	2.527	10	1.175	16	1.074
5	0.747	11	1.608	17	2.606
6	5.276	12	3.171	18	2.909

m 2.619

s.d. 1.8

min 0.747

max 7.963

TABLE IV

Bilbao 1987		calostro nº 19			
1	6.080	8	1.174	15	3.950
2	1.399	9	3.172	16	1.900
3	7.196	10	3.180	17	3.694
4	2.219	11	1.449	18	4.691
5	3.538	12	4.216	19	3.979
6	2.301	13	1.713		
7	0.893	14	3.778		
		m	3.185		
		s.d.	1.680		
		min	0.893		
		max	7.196		

S.E.G		Ar.		P.B.			
1984	nº 11	1987	nº 12	nº 13	nº 13		
1	3.026	1	0.889	1	0.761	1	1.140
2	7.353	2	6.334	2	3.259	2	1.452
3	3.390	3	3.088	3	4.546	3	1.808
4	5.254	4	3.115	4	2.231	4	0.501
5	4.407	5	1.868	5	0.876	5	1.745
6	4.754	6	4.659	6	2.205	6	0.980
7	5.247	7	2.509	7	0.793	7	1.516
8	4.040	8	3.594	8	4.001	8	2.033
9	5.838	9	7.438	9	3.302	9	1.115
10	7.285	10	5.672	10	0.815	10	1.734
11	4.300	11	2.466	11	2.636	11	0.776
		12	3.283	12	2.207	12	0.658
				13	1.911	13	1.837
m	4.990	m	3.743	m	2.272	m	1.330
s.d.	1.411	s.d.	1.930	s.d.	1.258	s.d.	0.502
min	3.026	min	0.889	min	0.761	min	0.501
max	7.313	max	7.438	max	3.302	max	2.033

PORFIRIAS: ALTERACIONES CONGENITAS DE LA VIA METABOLICA DEL

HEMO

M. LECHA, C. HERRERO, J.M. MASCARO.

Hospital Clínic i Provincial. Facultat de Medicina.
Barcelona.

Las porfirias constituyen un grupo de enfermedades ocasionadas por alteraciones hereditarias de la vía de síntesis del hemo. Esta vía metabólica compleja incluye un grupo de enzimas que a partir de dos elementos iniciales, el ac. succínico y la glicina, producen hemo a través de una serie de compuestos intermedios, los porfirógenos, y sus precursores. Los derivados oxidados de los porfirinógenos, las porfirinas, son moléculas planas, cíclicas y con alternancia de enlaces simples y dobles que las hacen capaces de absorber energía lumínica siendo sustrato de reacciones fotoquímicas.

Las porfirias se producen como consecuencia de defectos enzimáticos hereditarios en esta vía metabólica, que dan lugar a acúmulos de metabolitos intermedios, especialmente de aquellos que son el sustrato del enzima deficitario. La alteración enzimática puede ser debida a síntesis de estructura anormal o bien a síntesis lenta de enzimas estructuralmente normales. Los acúmulos de porfirinas o precursores muestran pues patrones distintos según el enzima alterado y son los responsables de los diversos cuadros clínicos de estas enfermedades, ya que las manifestaciones clínicas están relacionadas con la acción ejercida por las porfirinas o precursores a nivel de las distintas estructuras orgánicas. Así las manifestaciones cutáneas, las más frecuentes, se suponen debidas a reacciones de

fotosensibilidad anormal determinadas por la absorción de radiación lumínica (400nm, 500nm, 600nm) y reacciones fotoquímicas consecutivas.

Desde el punto de vista clínico las manifestaciones dermatológicas muestran dos patrones. Una forma aguda con eritema, edema y sensación de quemazón, y una forma crónica de fragilidad cutánea, bullosis actínica y traumática, esclerodermia, hipertrichosis e hiperpigmentación. Estos síntomas se suelen asociar a alteraciones del parénquima hepático con grados variables de afectación.

Otra manifestación habitual de las porfirias es la sintomatología neurológica relacionada con el acúmulo de precursores y que se traduce por dolor abdominal agudo y neuropatía periférica.

PORFIRIAS TOXICAS. PORFIRIAS EXPERIMENTALES

J.J. MUÑOZ, E. ENRIQUEZ DE SALAMANCA.

Unidad de Investigación sobre Porfirias. Hospital Clínico Universitario San Carlos. Madrid.

RESUMEN

Las porfirias son errores congénitos del metabolismo de las porfirinas. La muy activa y eficiente ruta biosintética del hemo es, por otra parte, muy sensible a la actuación de muy diversos xenobióticos. Estos, por consumir hemo o por inhibir alguna de las enzimas participantes en tal ruta, pueden originar porfirias tóxicas o experimentales.

El fungicida hexaclorobenceno (HCB) induce, tras su administración crónica, enfermedad porfírica clínica y bioquímica tanto en humanos -Porfiria Turca- como en diversos animales de experimentación. Su capacidad porfirinogénica reside en una inhibición de la actividad de la enzima uroporfirinógeno descarboxilasa en tejido hepático, pero aún persisten muchas incógnitas sobre su exacto mecanismo de acción. El HCB es un inductor de los isocitocromos P-450 b,c y d. Tales hemoproteínas metabolizan el xenobiótico a pentaclorofenol y otros compuestos, derivados estos que, sin embargo, carecen de por sí de potencialidad porfirinogénica. Se supone que en este proceso se originaría un intermediario que sería el responsable de la inhibición enzimática. Al igual que sucede en otras variedades de porfiria humana o experimental, la hipoactividad de una enzima de la porfirinosíntesis conduce a una disminución del depósito de hemo regulador, lo que, a su vez, desreprime la síntesis y actividad de la enzima primera y limitante de la ruta metabólica con lo que se evita que el producto final no

resulte deficitario pero a costa de originar un acúmulo masivo y una excreción incrementada de porfirinas.

Se comentan los variados modelos de inducción de porfiria experimental por HCB y la evolución de las porfirinas en el curso de la intoxicación.

INTRODUCCION

Las porfirias son errores congénitos del metabolismo del hemo (1). Sin embargo, numerosos xenobióticos interfieren con tan sensible ruta metabólica y dan lugar a las porfirias llamadas, indistintamente, tóxicas o experimentales (2, 3). Se denominan tóxicas atendiendo al agente etiológico y experimentales porque, debido a su semejanza con las variedades congénitas, proveen al investigador de valiosos modelos.

El fenómeno cardinal de las porfirias, sean congénitas o tóxicas, es la existencia de una alteración del metabolismo del hemo.

En el hígado, la porfirinosíntesis se controla a través de un depósito o "pool" intracelular del hemo libre (Figura 1). Con niveles adecuados de hemo se mantiene reprimida la síntesis de la enzima primera y limitante de la ruta, la δ -aminolevulínico sintetasa (ALA-S), pero si el contenido de este depósito mengua (por un bloqueo en la porfirinosíntesis, por un aumento importante de la demanda de hemoproteínas, o por ambas razones), se desreprime la síntesis de la ALA-S en un intento por mantener unos niveles adecuados del depósito (4).

La administración crónica de HCB origina hipoactividad hepática de la uroporfirinógeno descarboxilasa (URO-D), enzima que produce la descarboxilación secuencial del porfirinógeno octocarboxílico o uroporfirinógeno hasta el tetracarboxil-porfirinógeno o coproporfirinógeno.

La hipoactividad de la URO-D es el trastorno patogénico de la variedad cutánea tarda de las porfirias (PCT). Se han descrito hasta tres variedades de dicha enfermedad; en la forma familiar, la hipoactividad enzimática se identifica en todos los tejidos del organismo, mientras que en las

variedades adquiridas y en la intoxicación por HCB, únicamente se detecta tal déficit en el hígado (5, 6).

La semejanza entre la intoxicación por HCB y la PCT se extiende, también, al cuadro clínico. Lesiones tan típicas de la PCT como la hiperpigmentación, la hipertrichosis y la fragilidad cutánea (7), han sido también halladas en individuos expuestos al fungicida. Así, Gocmen y cols. (8), señalan que en 204 individuos que habían ingerido en Turquía trigo contaminado con HCB, la frecuencia de hiperpigmentación y de hipertrichosis fue, respectivamente, de 71.1 y 47.1% y estas lesiones predominaban, como ocurre en los pacientes con PCT, en las zonas expuestas a la luz solar; la fragilidad cutánea se encontró en este colectivo con una frecuencia del 37.7%. También en ratas intoxicadas con HCB se ha descrito la existencia de lesiones cutáneas en zonas afeitadas sometidas a la exposición a la luz U.V. y/o a microtraumatismo por fricción (9, 10).

La porfiria inducida en ratas por HCB es un aceptado modelo experimental de la PCT humana por el paralelismo no sólo en las alteraciones del metabolismo porfirínico (11) sino también en las modificaciones funcionales (12), estructurales y ultraestructurales hepáticas (13) y en el incremento de las concentraciones de citocromo P-450 en tejido hepático (14).

PATOGENIA

Si bien es ampliamente reconocido el efecto del HCB sobre la URO-D, el mecanismo por el que esto sucede no está aclarado todavía. La hipoactividad de la enzima pudiera deberse a la inhibición de la síntesis de la misma, a la inactivación del fermento o a ambas causas.

Elder y Sheppard (15) han comprobado que la administración de HCB conduce a un descenso progresivo en la actividad catalítica de la URO-D, pero éste no se acompaña de una disminución concomitante de la proteína enzimática inmunoreactiva, por lo que la hipoactividad se puede deber bien a la presencia de un inhibidor de la enzima, normalmente sintetizada, o bien a la inactivación de la misma de un modo tal que no se afecta el epitopo antigénico. Ríos de Molina y cols. (16), al comparar las características de la URO-D

purificada de hígado de ratas, bien controles o bien tratadas con HCB, observan diferencias que creen debidas a cambios estructurales de la enzima.

Tales resultados avalan al hipótesis de que la intoxicación por HCB no afecta la síntesis de la URO-D sino su actividad específica. Sin embargo, la controversia surge cuando se trata de identificar el inhibidor de la enzima.

La administración simultánea de HCB y fenobarbital, desarrolla el trastorno de la porfirinosíntesis de un modo más temprano e intenso (17, 18). El pretratamiento de los medios de cultivo de hepatocitos de pollo con otros inductores como el 3-metilcolantreno y la β -naftoflavona favorece el acúmulo de uroporfirina (19, 20). Por el contrario, inhibidores del metabolismo del HCB, como el SKF-525A y el butóxido de piperonilo, evitan el acúmulo hepático de uroporfirina (21). Por tanto, la hipoactividad de la URO-D no parece deberse a un efecto directo del fungicida sino, más bien, al de un derivado del mismo.

El metabolismo del HCB consiste en una hidroxilación inicial que origina pentaclorofenol, derivado que es transformado por subsiguientes hidroxilaciones en 1,2-diol ó 1,4-diol (22).

Debets y cols. (23) han comprobado que la administración de pentaclorofenol no desarrolla "per se" porfiria experimental, pero su administración simultánea con HCB acelera y amplifica la porfiria originada por el fungicida.

En la actualidad se contempla dos hipótesis acerca del origen del intermediario del metabolismo del HCB capaz de inhibir la URO-D:

A.- En la primera hipótesis se postula que, en la biotransformación del HCB, se originaría un intermediario reactivo que se uniría a la URO-D inactivándola.

Los derivados electrofílicos del HCB pueden reaccionar principalmente con glutathion (GSH) y, en menor medida, con centros nucleofílicos de diversas macromoléculas. Así, se han encontrado derivados del fungicida que contienen grupos

tiólicos en su molécula tanto en hígado como en excretas (24).

Debets y cols. (20), al tratar cultivos celulares con (14C)-HCB, detectan que parte de la radioactividad se encuentra ligada a proteínas microsomales y observan que la adición de ácido ascórbico y de butóxido de piperonilo a los medios de cultivo reduce tanto la cantidad de radioactividad unida a proteínas como el acúmulo de uroporfirina. Así pues, se postula que los derivados reactivos del HCB podrían interaccionar con los centros catalíticos (de carácter tiólico) de la URO-D originando la hipoactividad de la enzima.

La biodisponibilidad intracelular de GSH puede ir reduciéndose al lento ritmo en que el HCB acumulado accede al metabolismo hepático. A los 56 días de intoxicación experimental las ratas, tanto Wistar como Agus, evidenciaron unas tasas hepáticas de GSH descendidas (25). Por otro lado, el acúmulo hepático de porfirinas se inicia preferentemente en la región centrolobulillar (26), área que exhibe, precisamente, las menores tasas tisulares del tripéptido (27). Kerklaan y cols. (21) han observado que el vaciamiento del GSH intracelular, obtenido mediante la administración de dietilmaleato, exacerba la porfiria inducida por HCB.

La reactividad del intermediario debe ser de carácter moderado ya que, si bien se une a las proteínas adyacentes a su lugar de producción en los microsomas, ha de tener acceso a una proteína citosólica como es la URO-D, lo cual presupone cierta estabilidad. El reconocido efecto carcinogénico del HCB (28, 30) se podría también explicar por una acción a distancia del metabolito, ya que éste podría interaccionar con macromoléculas intranucleares.

A partir de hígados de ratas intoxicadas con HCB, Billi y cols. (31) han aislado un inhibidor de la URO-D de carácter no protéico, que es soluble en éter y tolueno -solventes éstos capaces de extraer los metabolitos del fungicida desde diversos fluidos y tejidos biológicos-.

B.- La segunda hipótesis planteada sigue la línea descrita en 1977 por De Matteis y Stonard (32) quienes postulaban que la inhibición de la URO-D causada por el HCB podría estar mediada por una especie reactiva de oxígeno.

La reacción global de monooxigenación catalizada por el sistema del citocromo P-450 es:

c P-450



pero, en determinadas circunstancias, puede acontecer un "desacoplamiento oxidativo" y la ecuación (1) se transforma en la siguiente:

c P-450



Así pues, cuando el xenobiótico es un mal sustrato para las reacciones de monooxigenación, se puede originar peróxido de hidrógeno (o el radical superóxido) en el curso del ciclo catalítico. El peróxido de hidrógeno no es en sí un radical libre ya que no tiene electrones desapareados en su corteza; sin embargo, el enlace O-O es relativamente débil y se descompone fácilmente, por fisión homolítica o en presencia de hierro, siguiendo la reacción de Fenton, en el radical hidroxilo.

Mediante cualquiera de estas especies reactivas de oxígeno (se ha llegado también a implicar al oxígeno singlete (33)) se oxidaría el uropofirinógeno a uropofirina o se originaría una uropofirina modificada.

Hemos comprobado con anterioridad que la uropofirina es capaz de inhibir la URO-D, tanto en presencia como en ausencia de luz U.V. (34). también Elder y cols. (33), irradiando esta porfirina con una lámpara de halógeno, han observado hipoactividad de la URO-D y, al igual que en la intoxicación por HCB, constatan que ésta no se acompaña de un descenso de la proteína enzimática inmunoreactiva.

La existencia de un desequilibrio entre la generación de especies reactivas de oxígeno y su detoxificación en el curso de la intoxicación por HCB, ha sido recientemente confirmada por Cantoni y cols. (35).

Sinclair y cols. (36), en cultivos de hepatocitos de embriones de pollo ha comprobado que la adición de ellipticina, un inhibidor selectivo del citocromo P-448, al medio de células pretratadas con HCB o pentaclorofenol se acompaña de un descenso brusco del acúmulo de uropofirina en el medio de cultivo, lo cual interpretan como incompatible con la unión de un metabolito del HCB a la enzima.

Una de las consecuencias del desequilibrio oxidativo es la peroxidación lipídica; ésta ha sido confirmada por varios autores en la intoxicación por HCB. Smith y cols. (37), en ratones C57B1/10 tratados con HCB y hierro comprueban unos niveles de malonilaldehído y de dienos conjugados incrementados respecto a los animales controles; Alleman y cols. (38), en ratas tratadas con hierro y HCB, confirman el aumento de la formación de malonilaldehído y observan la aparición de proteínas de alto peso molecular -que interpretan debidas a cross-linking protéico en las ratas porfíricas.

Aunque la implicación de los radicales libres de oxígeno en la patogenia del trastorno de la URO-D inducido por el HCB es muy sugestiva; sin embargo, la generación de especies reactivas de oxígeno es un fenómeno celular tan común que no deja de sorprender la postulada selectividad de las especies generadas, concretamente, en el metabolismo de algunos compuestos polihalogenados.

TOXICIDAD SELECTIVA

La porfiria inducida por HCB se ha comprobado en distintas especies como pájaros (39), diversos roedores (40) y, por supuesto en humanos (41). Mientras que en la codorniz se han descrito trastornos del metabolismo porfirínico a dosis de 0.5mg de HCB/kg/día, en las ratas se requiere una dosis 10 veces superior (42).

Dentro de la misma especie también se han demostrado diferencias respecto a la capacidad porfirinogénica del HCB. las ratas hembra de la estirpe Agus desarrollan un cuadro de profiria más rápido e intenso que las ratas hembras del tipo Porton-Wistar (43). Mientras que no existen diferencias respecto al nivel hepático del fungicida, el contenido hepático de hierro es mayor en las ratas de la primera

estirpe. En los ratones macho de la estirpe C57B1/10, pretratados con hierro, la administración de HCB induce a un acúmulo hepático de porfirinas, que no se aprecia o es relativamente poco importante en los de las estirpes BALB/c y DBA/2 (37).

La capacidad porfirinogénica del organoclorado es también dependiente del sexo de los animales. Entre las ratas, el HCB desarrolla un cuadro de porfiria experimental preferentemente en las hembras (44). En los ratones, los machos son más sensibles a la porfiria inducida por el fungicida (37).

McLeod y cols. (45) han demostrado recientemente que las diferencias, relativas al sexo, en varias actividades citocromo P-450 dependientes son opuestas entre las ratas y los ratones. Por tanto, no sorprende comprobar un hecho similar respecto a la capacidad porfirinogénica del HCB.

En ratas, las diferencias respecto al sexo en el metabolismo del HCB acontecen únicamente en el período prepuberal (46).

Algunos compuestos estrogénicos como el dietilestilbestrol o el clorotrianiseno incrementan el trastorno de la porfirinosíntesis y reducen los niveles hepáticos de HCB en las ratas macho así tratadas, lo que sugiere que los estrógenos aumentan el efecto del fungicida sobre la biosíntesis del hemo a través de la biotransformación del xenobiótico (47).

EXCRECCION DE PORFIRINAS Y PRECURSORES

Como consecuencia del bloqueo enzimático se incrementan las actividades de las dos enzimas limitantes de la biosíntesis del hemo, ALA-S y porfobilinógeno desaminasa (12). De este modo, se estimula la porfirinosíntesis para mantener unas adecuadas tasas de hemo; sin embargo, este equilibrio se mantiene a costa del acúmulo de los sustratos de la enzima, es decir, los porfirinógenos con ocho, siete, seis y cinco grupos carboxílicos.

Quizás para aliviar parte del acúmulo de los porfirinógenos, en estas condiciones se abre una ruta

metabólica alternativa. En ella, el porfirinógeno pentacarboxílico se convierte en sustrato de la coproporfirinógeno oxidasa y origina las porfirinas de la serie isocopro, que se detectan típicamente en las heces de los animales intoxicados con HCB.

El patrón excretorio de porfirinas en la intoxicación por el organoclorado es similar al observado en la PCT; sin embargo, existen ciertas diferencias respecto a la variedad de las porfirias: el porcentaje de heptacarboxil-porfirina (HEPTA) urinaria es superior en el trastorno congénito del metabolismo del hemo (Figura 2). Dado que en los pacientes afectados de PCT se cree que la etapa descarboxilativa afectada preferentemente es la que transcurre entre la HEPTA y la coproporfirina, parece verosímil interpretar las diferencias porcentuales en la excreción urinaria de HEPTA como debidas a un trastorno más profundo de la primera etapa de la descarboxilación en la intoxicación por HCB (26).

La distribución isomérica de las porfirinas excretadas también difiere entre la PCT y su modelo experimental. Mientras que en los pacientes con PCT predomina el isómero I, en las ratas intoxicadas con HCB abundan preferentemente las porfirinas de la serie isomérica III.

La excreción urinaria de los precursores porfirínicos, ácido s-aminolevulínico y porfobilinógeno, es normal en los pacientes afectados de PCT y, sin embargo, se encuentra incrementada en las ratas tratadas con HCB (Figura 3).

PAUTAS DE INTOXICACION

Una de las pautas más clásicas de inducción de porfiria experimental consiste en la adición a la dieta de concentraciones de HCB oscilantes entre 0.2% y 0,3%. Sin embargo, en nuestra experiencia y en la de diversos autores, tales concentraciones se acompañan de elevada mortalidad que puede alcanzar hasta un tercio de los animales (48). Tal mortalidad se redujo al 5% al disminuir hasta el 0.05% la proporción del fungicida en la dieta (49, 50). Se ha descrito la presencia de cambios ultraestructurales hepáticos a los 3 meses de la adición a la dieta de dosis de 5 ppm aunque no de 1 ppm (51).

La comodidad que supone la administración del tóxico mezclado con la dieta se ve contrarrestada por la gran variabilidad en la respuesta porfirinogénica de los animales.

San Martín de Viale y cols. (44) administraron el HCB suspendido en agua con ayuda de Tween 20 (1000 mg/Kg/día), pero en nuestra experiencia tal pauta se tradujo en muy elevada mortalidad (48). Un vehículo apropiado para medio acuoso podría ser la emulsión en carboximetilcelulosa al 1% (52).

Sin embargo, la absorción intestinal del fungicida en suspensión acuosa parece ser francamente baja (5%-6%) mientras que se lleva hasta el 80% en suspensión oleosa (53).

Al igual que Doss y cols. (54), nosotros administramos el tóxico por sonda gástrica emulsionado en aceite de oliva o semillas al 1% (peso/volumen) en dosis diarias de 50 mg/Kg (55), con lo que se puede alcanzar la situación porfírica al cabo de 6-7 semanas.

Una moderada sobrecarga férrica es un hecho frecuente y característico de la PCT humana (56). El hierro juega un importante papel desencadenante o amplificador (que no causal) en esta enfermedad; las flebotomías repetidas inducen su remisión mientras que la administración del metal favorece la recidiva. También en los animales de laboratorio se ha comprobado este importante cometido del hierro sobre el metabolismo porfirínico. Así, Smith y cols. (37) comprobaron que la cepa de ratones C57B1/10 era incapaz de desarrollar porfiria si previamente a la intoxicación con HCB no se trataba a los animales con hierro dextrano. Taljaard y cols. (57), en ratas, ya habían observado en 1972 este efecto sinérgico entre el metal y el fungicida. También en cultivo de hepatocitos se ha evidenciado que el nitrilotriacetato férrico potencia el acúmulo de uroporfirina provocado por el organoclorado, mientras que la desferrioxamina lo evita (58).

En base a tales hechos, nosotros hacemos previamente sideróticas a las ratas (hembras) mediante la administración i.p. de 10 dosis (10 mg) de hierro dextrano, lo cual no modifica la excrección porfirínica. Tras 2 semanas de descanso, procedemos a la administración del HCB en la forma anteriormente indicada (Figura 4).

Bajo dicha pauta, observamos incremento de la porfirinuria a partir de la 5ª semana de intoxicación (Figura 4) si bien se puede incluso apreciar presencia elevada de isocoproporfirina fecal a partir de la 2ª semana (Figura 5). La individualización cromatográfica de las diversas carboxilporfirinas excretadas muestra un perfil muy significativamente alterado a partir de la 5ª-6ª semana: incremento de las porfirinas policarboxílicas urinarias y fecales, elevado porcentaje de isocoproporfirina (Porfirina P1) fecal, y descenso especular del porcentaje de porfirina tetracarboxílica (coproporfirina) (Figura 5).

Una vez plenamente desarrollada la porfiria experimental (2-3 meses) son objetivables la disminución de la actividad hepática (no eritrocitaria) de la URO-D (12) y el acúmulo tisular de porfirinas octo- y hepta-carboxílicas que, a nivel hepático, alcanzan concentraciones próximas a 500 ug/g de tejido fresco (valor normal: 0.3-0.5 ug/g (41)).

EPILOGO

La definición de las porfirias como errores congénitos del metabolismo del hemo no excluye la existencia de variedades tóxicas. La base genética de la PCT familiar ha quedado plenamente confirmada; sin embargo, ciertos hallazgos inmunoenzimáticos (59) sustentan el origen adquirido del subtipo esporádico de tal enfermedad. Alrededor del 80% de los casos de PCT pertenecen a este último subtipo.

En España se han constatado una muy alta incidencia de PCT y elevadas concentraciones de HCB en tejido adiposo humano y en alimentos (60). Resulta pues tentador sugerir una posible relación entre ambos hechos ya que, como acabamos de revisar, el fungicida posee una potente capacidad porfirinogénica.

"AGRADECIMIENTOS:

Trabajo realizado con Ayudas del FISS (88/1019) y de la CAICYT (PB 85-0015)".

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R. Porfirias: errores congénitos del metabolismo. An. Med. Intern. 1985. (Madrid)). 2: 412-415.
- 2.- ELDER GH, URQUHART AJ. Porphyrin metabolism as a target of exogenous chemicals. En: "Occupational and environmental chemical hazards". Foá, V. and cols. (eds.) E. Horwood Ltd., Chichester, pp. 221-230. 1987.
- 3.- SWEENEY GD. Experimental porphyria. Clin. Dermatol. 1985. 3:125-143.
- 4.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, MUÑOZ JJ. Metabolismo de las porfirinas y del hemo. En: "Enfermedades Digestivas". Vilardel, F. y cols. (eds.). Jarpyo Editores S.A., Madrid (en prensa).
- 5.- ROBERTS AG, ELDER GH, NEWCOMBE RG, ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, MUÑOZ JJ. Heterogeneity of familial porphyria cutanea tarda. J. Med. Genet. (en prensa).
- 6.- ELDER GH, SHEPPARD DM, ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, OLMOS A. Identification of two types of porphyria cutanea tarda by measurement of erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase. Clin. Sci. 1980. 58: 477-484.
- 7.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, CHINARRO S, VALLS V, MUÑOZ JJ, PERPIÑA J, BERGES L, PASCUAL R, OLMOS A. Porfíria cutánea tarda. Endocrinología Clínica y Metabolismo. 1982. 1: 46-67.
- 8.- GOCMEN A, PETERS HA, CRIPPS DJ, MORRIS CR, DOGRAMACI I. Porphyrin turcica: hexachlorobenzene-induced porphyria. En: "Hexachlorobenzene: Proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications Nº 77. International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 567-573. 1986.
- 9.- PEARSON RW, MALKINSON FD. Some observations on hexachlorobenzene induced experimental porphyria. J. Invest. Dermatol. 1985. 44: 420-429.

- 10.- TORINUKI W, KUMAI N, MIURA T. Histopathological studies on sun-exposed hexachlorobenzene induced porphyric rat skin. Tohoku J. Exp. Med. 1981. 134: 425-430.
- 11.- ARNALICH F, ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, CATALAN T, MAS V, GARCIA J. Metabolismo hepático de la bromosulfoftaleina en la porfiria experimental inducida en ratas por hexaclorobenceno. Gastroenterol. Hepatol. 1980. 3: 128-132.
- 12.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, BATLLE AMC, CHINARRO S, ALFONSO SG, STELLA AM, BERGES L, WIDER E. Estudio comparativo entre al profiria experimental por hexaclorobenceno y la porfiria cutanea tarda humana. An. Med. Intern. 1985. (Madrid). 2: 319-329.
- 13.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, FARIÑA J, PERPIÑA C, CATALAN T, MERCHAN M, ARNALICH F, ARAGONCILLO P, MAS V. Porfiria experimental por hexaclorobenceno: estudio de las alteraciones hepáticas estructurales y ultraestructurales. Arch. Fac. Med. 1978. (Madrid). 34: 173-185.
- 14.- BLEKKENHORST GH, EALES L, PIMSTONE NR. The nature of hepatic cytochrome P-450 induced in hexachlorobenzene fed rats. Clin. Sci. Mol. Med. 1978. 55: 461-469.
- 15.- ELDER GH, SHEPPARD DM. Immunoreactive uroporphyrinogen decarboxylase activity is unchanged in porphyria caused by tetrachlorodibenzo-p-dioxin and hexachlorobenzene. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1982. 109: 113-120.
- 16.- RIOS DE MOLINA MC, BILLI SC, SAN MARTIN DE VIALE LC. Does feeding of hexachlorobenzene promote structural changes in rat-liver porphyrinogen carboxy-lyase?. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications Nº 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp. 481-486. 1986.
- 17.- WAINSTOK DE CALMANOVICI R, RIOS DE MOLINA MC, TAIRA DE YAMASATO M.C, TOMIO JM, SAN MARTIN DE VIALE LC. Mechanism of hexachlorobenzene-induced porphyria in rats. Effect of phenobarbitone pretreatment. Biochem. J. 1984. 218: 753-763.
- 18.- DEBETS FMH, STRIK JTTWA. An approach to elucidate the mechanism of hexachlorobenzene-induced hepatic porphyria as a

model for the hepatotoxicity of polyhalogenated compounds. En: "Chemical porphyria in man". Strik, J.J.T.W.A., Koeman, J.H. (eds.). Elsevier, Amsterdam, pp: 181-208. 1979.

19.- DEBETS FMH, HAMERS WJHMB, STRIK JJTWA. Metabolism as a prerequisite for the porphyrinogenic action of polyhalogenated aromatics, with special reference to hexachlorobenzene and polybrominated biphenyls (firemaster BP-6). Int. J. Biochem. 1980. 12: 1019-1025.

20.- DEBETS FMH, REINDERS JH, DEBETS AJM, LÖSSBROEK TG, STRIK JJTWA, KOSS G. Biotransformation and porphyrinogenic action of hexachlorobenzene and its metabolites in a primary liver cell culture. Toxicology. 1981. 19: 185-196.

21.- KERKLAAN PRM, STRIK JJTWA, KOEMAN JH. Toxicity of hexachlorobenzene with special reference to hepatic glutathione levels, liver necrosis, hepatic porphyria and metabolites of hexachlorobenzene in female rats fed hexachlorobenzene and treated with phenobarbital and diethylmaleate. En: "Chemical porphyria in man". Strik, JJTWA.; Koeman, JH. (eds.). Elsevier, Amsterdam, pp: 151-160. 1979.

22.- STEWART FP, SMITH AG. Metabolism of hexachlorobenzene by rat-liver microsomes. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp: 325-327. 1986.

23.- DEBETS FMH, STRIK JJTWA, OLIE K. Effects of pentachlorophenol on rat liver changes induced by hexachlorobenzene with special reference to porphyria and alterations in mixed function oxygenases. Toxicology. 1980. 15: 181-195.

24.- KOSS G, KORANSKY W, STEINBACH K. Studies on the toxicology of hexachlorobenzene. II. Identification and determination of metabolites. Arch. Toxicol. 1976. 35: 107-114.

25.- DEBETS FMH, REINDERS JH, KOSS G, SEIDEL J, STRIK A. Effects of dietary antioxidants on the biotransformation and porphyrinogenic action of hexachlorobenzene in two strains of rats. Chem. Biol. Interact. 1981. 37: 77-94.

- 26.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, ENRIQUEZ DE SALAMANCA C. Hexachlorobenzene-induced porphyria. Semin. Dermatol. 1986. 5: 206-212.
- 27.- SMITH MT, LOVERIDGE N, EILLS ED, CHAYEN J. The distribution of glutathione in the rat liver lobules. Biochem. J. 1979. 182: 103-108.
- 28.- CABRAL JRP, SHUBIK P. Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in mice and hamsters. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 411-416. 1986.
- 29.- ERTÜRK E, LAMBRECHT RW, PETERS HA, CRIPPS DJ, GOCMEN A, MORRIS CR, BRYAN GT. Oncogenicity of hexachlorobenzene. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 417-423. 1986.
- 30.- SMITH AG, CABRAL JRP. Liver cell tumors in rats fed hexachlorobenzene. Cancer Lett. 1980. 11: 169-172.
- 31.- BILLI SC, WAINSTOK DE CALMANOVICI R, SAN MARTIN DE VIALE LC. Rat-liver porphyrinogen carboxy-lyase inhibition as a function of the degree of hexachlorobenzene-induced porphyria. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 487-491. 1986.
- 32.- DE MATTEIS F, STONARD MD. Experimental popyrias as models for human hepatic porphyrias. Semin. Hematol. 1977. 14: 187-192.
- 33.- ELDER GH, URQUHART AJ. Immunochemical studies of the uroporphyrinogen decarboxylase defect caused by hexachlorobenzene. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 441-448. 1986.

- 34.- BATLLE AMC, ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, CHINARRO S, AFONSO SG, STELLA AM. Photodynamic inactivation of red cell uroporphyrinogen decarboxylase by porphyrins. Int. J. Biochem. 1986. 18: 143-147.
- 35.- CANTONI L, CARUGO C, PALEA S, RIZZARDINI M. Formation of reactive oxygen species in hexachlorobenzene induced hepatic damage and porphyria in mice. Comunicación oral N° 17. Abstracts International Meeting Porphyrins and Porphyrias, Roma, 1987.
- 36.- SINCLAIR PR, SINCLAIR JR, BEMENT WJ, LAMBRECHT RW, BONKOVSKY HL. Induction of porphyria in cultured chick-embryo hepatocytes by halogenated aromatic compounds. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp: 535-542. 1986.
- 37.- SMITH AG, STEWART FP, FRANCIS JE. Genetic, iron status and sex factors of porphyria induced by hexachlorobenzene. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon , pp: 433-439. 1986.
- 38.- ALLEMAN MA, KOSTER JF, WILSON JHP, EDIXHOVEN-BOSDIJK A, SLEE RG, KROOS MJ, EIJK HGV. The involvement of iron and lipid peroxidation in the pathogenesis of HCB iduced porphyria. Biochem. Pharmacol. 1985; 34: 161-166.
- 39.- BUHLER DR, CARPENTER HM. Japanese quail as a model for the study of hexachlorobenzene-induced pophyria. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 477-480. 1986.
- 40.- DE MATTEIS F, PRIOR BE, RIMINGTON C. Nervous and biochemical disturbances following hexachlorobenzene intoxication. Nature. 1961. 191: 363-365.
- 41.- OCKNER RK, SCHMID R. Acquired porphyria in man and rat due to hexachlorobenzene intoxication. Nature. 1961. 189: 499.

- 42.- VOS JG, VAN DER MAAS HL, MUSCH A, RAM E. Toxicity of hexachlorobenzene in japanese quail with special reference to porphyria, liver damage, reproduction and tissue residues. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1971. 18: 944-957.
- 43.- SMITH AG, CABRAL JRP, DE MATTEIS F. A difference between two strains of rats in their liver non-haem iron content and in their response to the porphyrinogenic effect of hexachlorobenzene. Chem. Biol. Interact. 1979. 27: 353-363.
- 44.- SAN MARTIN DE VIALE LC, VIALE AA, NACHT S, GRINSTEIN M. Experimental porphyria induced in rats by hexachlorobenzene. A study of the porphyrins excreted by urine. Clin. Chim. Acta. 1970. 28: 13-23.
- 45.- MACLEOD JN, SORENSEN MP, SHAPIRO BH. Strain independent elevation of hepatic mono-oxygenase enzymes in female mice. Xenobiotica. 1987. 17: 1095-1102.
- 46.- RIZZARDINI M, SMITH AG. Sex differences in the metabolism of hexachlorobenzene by rats and the development of porphyria in females. Biochem. Pharmacol. 1982. 31: 3543-3548.
- 47.- SMITH AG, FRANCIS JE. Increased inhibition of hepatic uroporphyrinogen decarboxylase by hexachlorobenzene in male rats given the oestrogenic drugs diethylstilboestrol and chlorotrianisene. Biochem. Pharmacol. 1981. 30: 1849-1853.
- 48.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, MAS ANDRES V, CATALAN BELTRAN, MOLINA FERRAGUT C, CHINARRO FAMILIAR S, OLMOS ANDRES A. Estudios sobre inducción de porfiria experimental por hexachlorobenceno en ratas. Rev. Esp. Enf. Ap. Digest. 1982. 61: 1-14.
- 49.- DAY RS, BLEKKENHORST GH, EALES L. Drug induced acute porphyric episodes in rats. Int. J. Biochem. 1980. 12: 1007-1011.
- 50.- GOERZ G, VIZETHUM W, BOLSEN K, KRIEG TH, LISSNER R. Hexachlorobenzol (HCB)-bedingte porphyrie der ratte eingfluss von HCB-metaboliten auf die haembiosynthese. Arch. Dermatol. Res. 1978. 263: 189-196.

- 51.- MOLLENHAUER HH, JOHNSON JH, YOUNGER RL, CLARK DE. A unique intracellular aberration related to hexachlorobenzene ingestion. Am. J. Vet. Res. 1976. 37: 847-850.
- 52.- CORBELLA J, TO-FIGUERAS J, RODAMILANS M, GOMEZ J. Mobilization, redistribution and excretion of hexachlorobenzene following food restriction in rats. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer, Lyon, pp: 289-295. 1986.
- 53.- KOSS G. Studies on the pharmacokinetics of hexachlorobenzene in rats. En: "Porphyrins in human diseases". Doss, M (eds.) Karger, Basilea, pp: 414-417. 1976.
- 54.- DOSS M, SCHERMULY E, KOSS G. Hexachlorobenzene porphyria in rats as a model for human chronic hepatic porphyrias. Ann. Clin. Res. 1976. 8 (supl.17): 171-181.
- 55.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, MAS ANDRES V, CATALAN BELTRAN T, OLMOS ANDRES A, PEÑA PAYERO ML, MOLINA FERRAGUT C, CHINARRO FAMILIAR S, MUÑOZ GONZALEZ JJ. Alteraciones del metabolismo porfirínico en el curso de la porfiria inducida a ratas por hexaclorobenceno. Actas Dermo-Sif. 1981. 72: 289-300.
- 56.- ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, ARNALICH F, DE DIEGO A. El hígado en la porfiria cutánea tarda. Gastroenterol. Hepatol. 1980. 3: 291-302.
- 57.- TALJAARD JJF, SHANLEY BC, DEPPE WM, JOUBERT SM. Porphyrin metabolism in experimental hepatic siderosis in the rat. II Combined effect of iron overload and hexachlorobenzene. Br. J. Haematol. 1972. 23: 513-519.
- 58.- FERIOLI A, HARVEY C, DE MATTEIS F. Drug-induced uroporphyrin in chicken hepatocyte cultures. En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77, International Agency for Research on Cancer. Lyon, pp: 465-466. 1986.
- 59.- ELDER GH, URQUHART AJ, ENRIQUEZ DE SALAMANCA R, MUÑOZ JJ, BONKOVSKY HL. Immunoreactive uroporphyrinogen

decarboxylase in the liver in porphyria cutanea tarda. Lancet ii. 1985. 229-233.

60.- TO-FIGUERAS J, RODAMILANS M, GOMEZ J, CORBELLA J. Hexachlorobenzene residues in the general population of Barcelona (Spain). En: "Hexachlorobenzene: proceedings of an international symposium". Morris, C.R. and Cabral, J.R.P. (eds.). IARC scientific publications N° 77; International Agency for Research on Cancer, Lyon. pp: 147-148. 1986.

FIGURA I

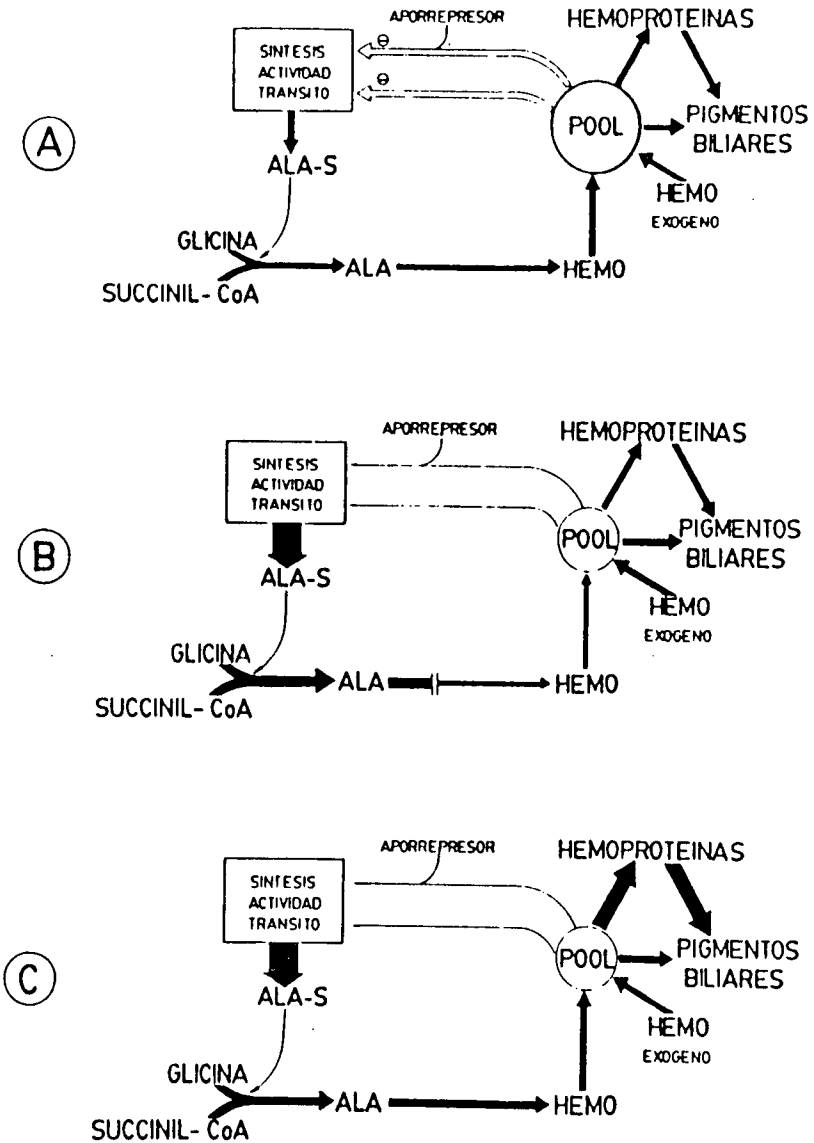


FIGURA II

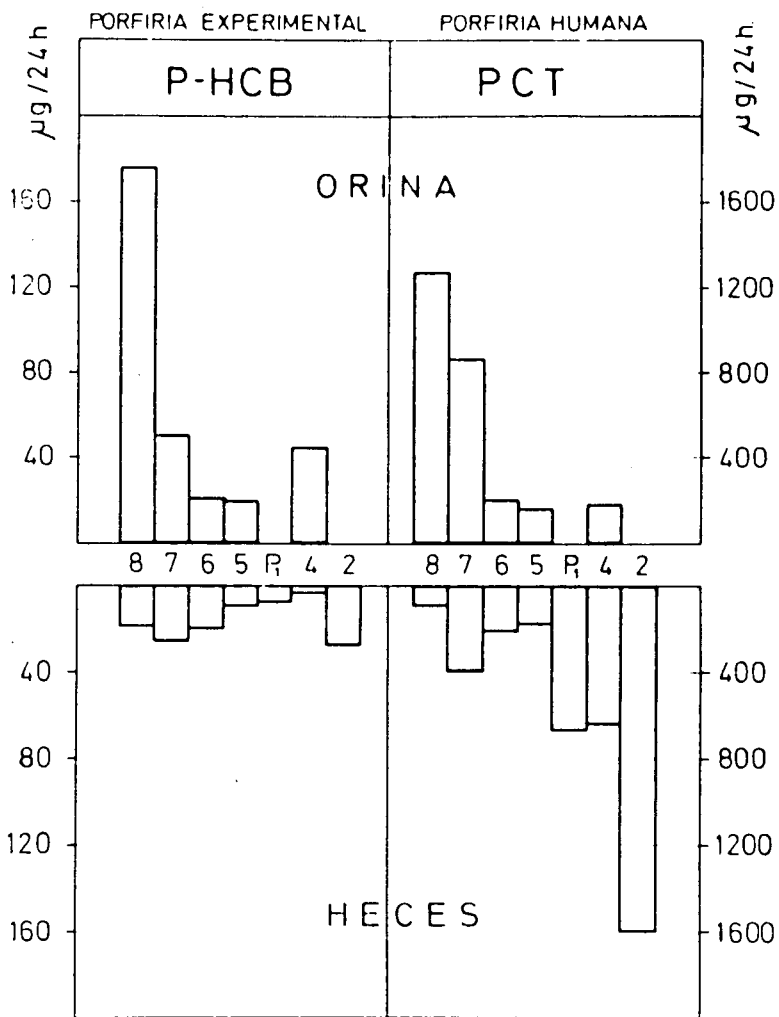


FIGURA III

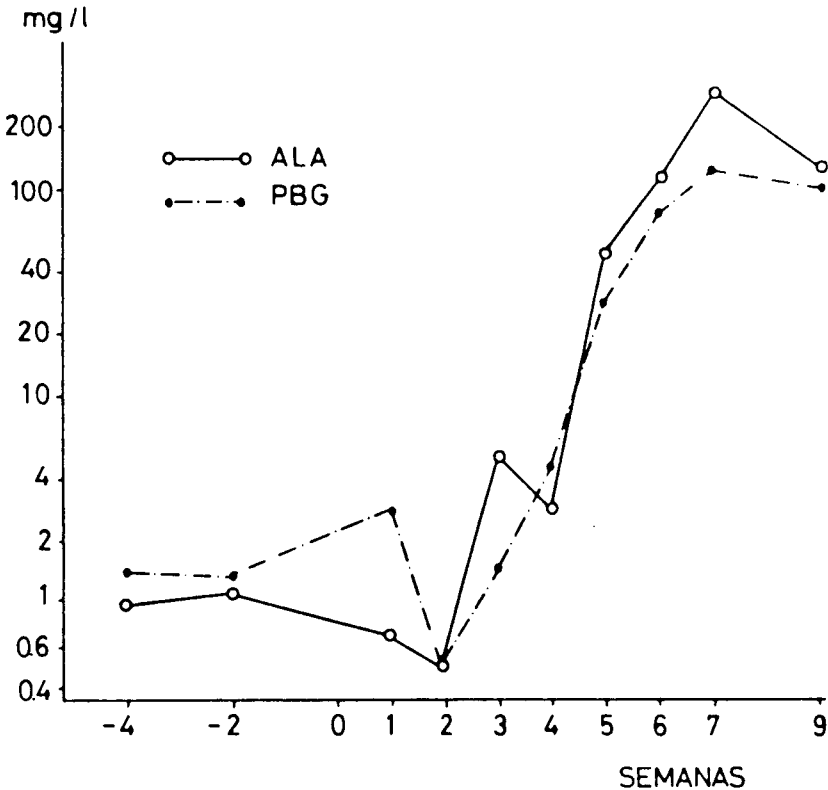


FIGURA IV

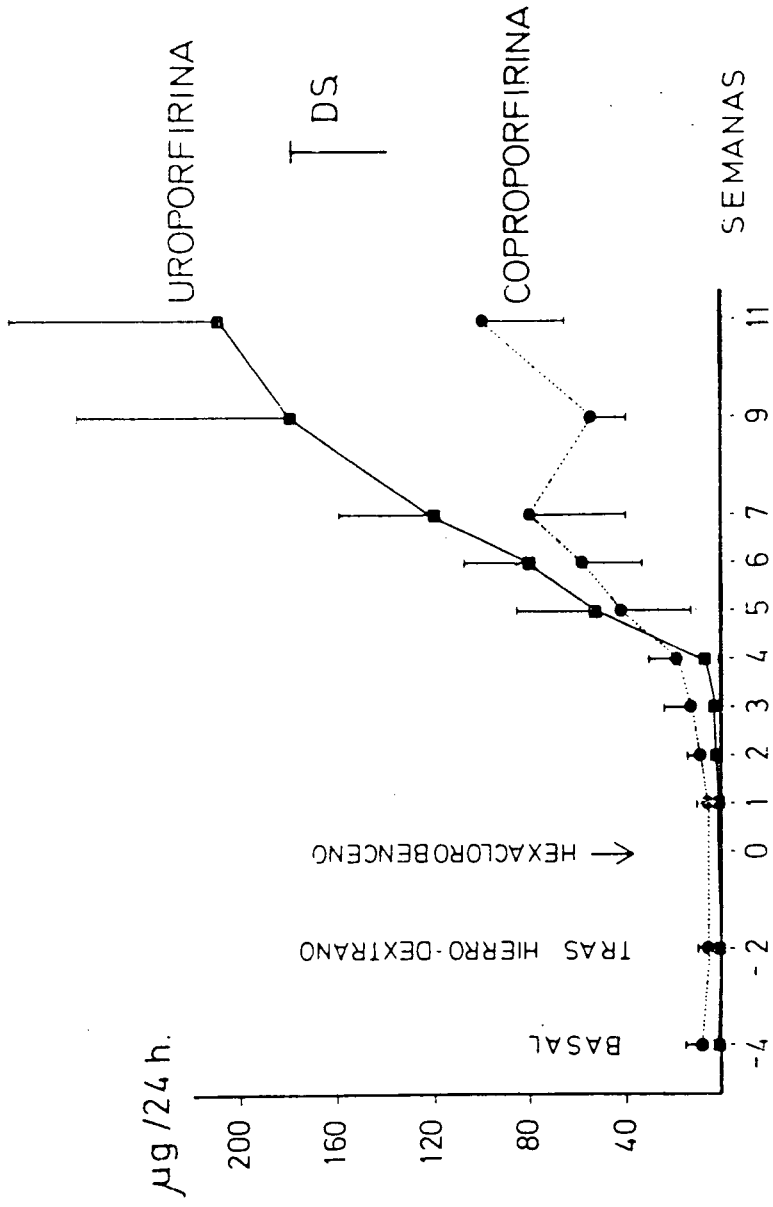
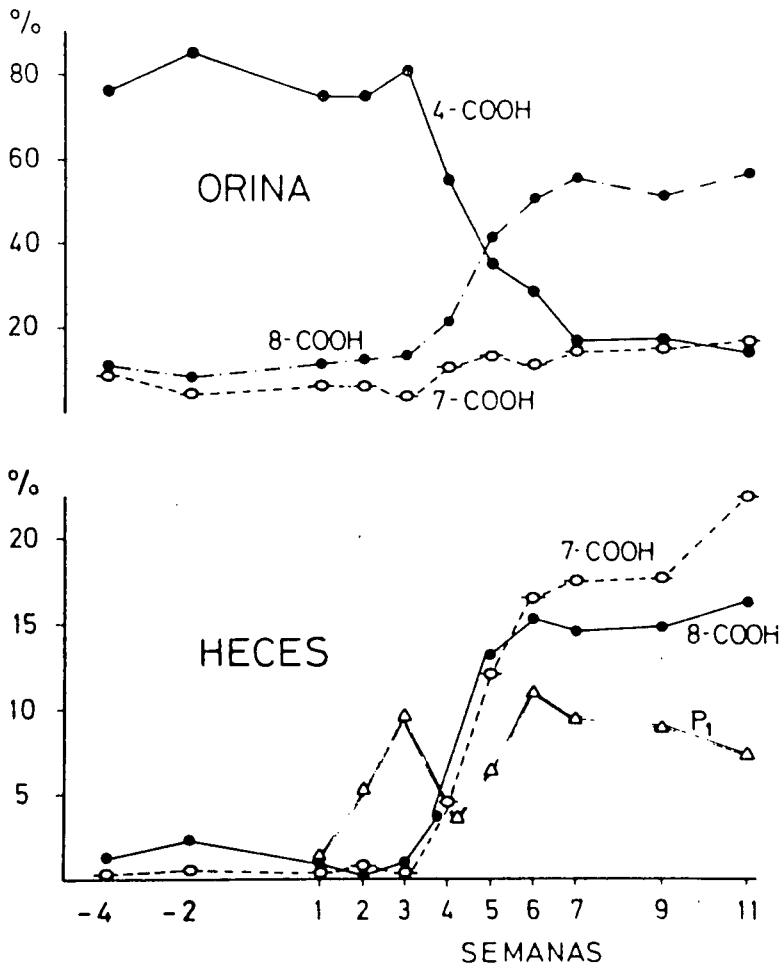


FIGURA V



**TRANSPORTE DE HCB EN LA SANGRE. I: DETERMINACION DEL PATRON
DE UNION DEL HCB A LOS COMPONENTES CELULARES Y
MACROMOLECULARES**

J. GOMEZ-CATALAN, J. TO-FIGUERAS, M. RODAMILANS, J. CORBELLA

U.E.R. Medicina Legal, Laboral i Toxicologia. Facultat de
Medicina. Universitat de Barcelona.

Debido a su escasa hidrosolubilidad, los residuos organoclorados -entre ellos el HCB- son transportados por la sangre a través del organismo ligados a los componentes macromoleculares y celulares de la misma. Los residuos son eliminados del seno del medio acuoso por las fuerzas de cohesión del agua y adsorbidos en las interfases macromolécula-agua. En el caso de las lipoproteínas, y debido a su estructura micelar, cabe la posibilidad de que intervengan fenómenos de partición (agua-contenido lipídico del núcleo lipoproteico) además de fenómenos de adsorción. Se ha comprobado para diversos xenobióticos apolares una contribución elevada de las lipoproteínas a su transporte plasmático (1, 2, 3, 4).

La unión de los residuos a los transportadores sanguíneos puede tener consecuencias sobre su cinética de distribución en el organismo, a la vez que puede alterar la función fisiológica del transportador (5, 6).

Nuestro objetivo ha sido caracterizar el "patrón de unión" del HCB -y otros organoclorados- a los componentes de la sangre, en particular el reparto entre plasma y células sanguíneas, y la aportación de las lipoproteínas. Se han

realizado experiencias "in vivo" e "in vitro" en ratas, e "in vitro" en sangre humana.

MATERIAL Y METODOS

En las experiencias "in vivo", a las ratas, Sprague-Dawley hembras, se les administró HCB mediante sonda gástrica, disuelto en carboximetil celulosa/aceite de maíz. La sangre se obtuvo por punción cardíaca. La separación de plasma y células se realizó por centrifugación. La separación de los componentes plasmáticos se realizó alternativamente mediante ultracentrifugación y electroforesis.

La separación por ultracentrifugación se realizó ajustando la densidad mediante KBr, obteniendo las fracciones de QM+VLDL, LDL, HDL y resto de proteínas (7). El análisis de las fracciones se realizó, tras extracción con hexano/éter y purificación del extracto con ácido sulfúrico, mediante ECD-GLC.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla I se observan los resultados obtenidos mediante ultracentrifugación para el HCB en plasma, a las 24 horas de la administración oral. Se observa que aprox. el 50% está unido a lipoproteínas, mientras que el resto está unido a la fracción de "proteínas", formada por el resto de proteínas densas. Entre las lipoproteínas, la contribución mayoritaria es la de HDL, mientras que la de las LDL es muy escasa (las LDL son una fracción minoritaria en el plasma de rata).

Sin embargo, el patrón de unión del DDE es muy diferente, con una contribución muy escasa del resto de proteínas (tabla II). Entre las lipoproteínas, la fracción QM+VLDL presentan la contribución mayoritaria.

Los resultados mostrados corresponden a concentraciones plasmáticas totales de 1-3 ppm. Experiencias a concentraciones inferiores y superiores muestran patrones de unión similares, lo que sugiere que no se producen efectos de saturación.

En la figura 1 se muestran gráficamente los patrones de unión de HCB, DDE y otros residuos organoclorados ensayados. Destaca la similitud entre los patrones de DDE y aroclor 1260, el carácter intermedio del γ -HCH entre aquellos y el HCB, y el patrón totalmente distinto del PCF, que se une mayoritariamente a proteínas, justificable por su carácter mucho más polar debido al grupo fenólico.

Se ha comparado el patrón de unión de tres isómeros del HCH, comprobándose que los patrones son prácticamente idénticos (figura 2). Por tanto, las diferencias en la distribución espacial de los sustituyentes cloro, que justifican las marcadas diferencias en las propiedades fisicoquímicas y biológicas de los isómeros, no afectan a este patrón.

Se ha determinado el patrón de unión "in vitro". Para ello, en primer lugar se ha seguido la cinética de incorporación de los residuos al plasma a partir de las paredes del tubo de incubación (a 37°C) (figura 3). Se observa que la cinética de incorporación de HCB y DDE es rápida (prácticamente total en 5 min). Se ha considerado suficiente un período de incubación de 30 min. El patrón de unión obtenido es similar al descrito para el caso "in vivo" (figuras 4, 5 y 6).

Asimismo se ha seguido el patrón de unión a proteínas plasmáticas a diferentes períodos post-ingesta del HCB (figura 4). Se presentan los resultados a 1, 6 y 24 horas e "in vitro". Como se observa, no se aprecian diferencias significativas. La misma comparación se ha realizado con el DDE (figura 5) y con el γ -HCH (figura 6). En general se observa una mayor contribución de la fracción QM+VLDL en la muestra correspondiente a una hora post ingesta; esto puede ser debido a la mayor concentración de QM circulantes.

Ya que el proceso de ultracentrifugación es largo y supone utilizar condiciones de fuerza iónica extremas para ajustar las densidades, es posible que los resultados obtenidos se vean afectados por algún artificio del método. A fin de descartar esta posibilidad se ha empleado como técnica alternativa la electroforesis.

Se han utilizado geles comerciales "Lipofilm", obteniéndose una distribución a lo largo del gel como se

muestra en la figura 7 para el HCB y para el DDE. Como se observa, no se obtiene una separación nítida de HDL y albúmina, y la distribución de los residuos es más dispersa que la correspondiente a los componentes plasmáticos. También se ha ensayado la separación en geles mixtos de agarosa/poliacrilamida, con los que se consigue separar HDL y albúmina.

En conjunto, las técnicas electroforéticas no constituyen una alternativa a la ultracentrifugación ya que:

- se requiere trabajar con plasmas con mayor concentración de residuo por lo limitado del volumen de muestra.

- el perfil de distribución a lo largo del gel no presenta separaciones nítidas.

- los resultados presentan una gran dispersión.

Se han comparado los resultados con los obtenidos por ultracentrifugación para HCB y DDE en lipofilm y acrilamida. Los resultados son comparables a nivel cualitativo, no apareciendo diferencias significativas, en parte por la elevada dispersión en los resultados obtenidos por electroforesis. Esta coincidencia sugiere que no se producen artificios importantes en estas técnicas de separación.

La coincidencia de los resultados obtenidos "in vivo" e "in vitro" permiten abordar el problema del patrón de unión en el plasma humano mediante incubación "in vitro" (las concentraciones basales presentes en la población general son demasiado pequeñas para permitir una determinación cuantitativa). En la figura 8 se comparan los resultados en el hombre con los obtenidos en la rata para HCB, DDE y g-HCH.

Se observa que el reparto entre lipoproteínas y resto de proteínas es similar para HCB y g-HCH en la rata y en el hombre. Considerando únicamente las lipoproteínas, el reparto es similar para los tres residuos y, a diferencia de lo que sucedía en la rata, la contribución de las LDL es muy importante (en el hombre las LDL son la fracción mayoritaria). Sin embargo, el patrón de unión del DDE en el plasma humano es totalmente inverso al determinado en la

rata, encontrándose mayoritariamente unido a la fracción de proteínas.

Se ha investigado el reparto entre plasma y hematíes en la rata y en el hombre "in vivo" (figura 9). Se observa que el comportamiento del HCB en la sangre de rata se caracteriza por la elevada contribución de los hematíes (87%). El DDE en cambio es transportado mayoritariamente por el plasma. El comportamiento del HCH es intermedio. En la rata se ha determinado también el reparto entre citoplasma y membrana: el reparto de HCB est desplazado hacia el citoplasma mientras que para el DDE es inverso.

Los resultados "in vitro" son similares a los obtenidos "in vivo" en rata (figura 10). Se observan tres tipos de comportamiento:

- HCB y Pentaclorobenceno, mayoritariamente transportado en las células.
- DDE y aroclor 1260 mayoritariamente en el plasma.
- HCH isómeros: comportamiento intermedio.

Estos resultados sugieren la existencia de una dependencia estructural de la afinidad de los residuos por los hematíes, especialmente elevada para los derivados bencénicos. Se ha comprobado el comportamiento de diversos cloroansoles (tabla III). Se observa que todos ellos presentan una distribución claramente desplazada hacia hematíes, al igual que el HCB.

CONCLUSIONES

El conjunto de resultados obtenidos indica que los residuos organoclorados son transportados en una importante fracción por las lipoproteínas plasmáticas. Ya que las lipoproteínas constituyen sólo una pequeña parte del conjunto de proteínas plasmáticas, esta distribución indica una afinidad relativa muy elevada entre residuos y lipoproteínas.

El patrón de unión de los diferentes residuos es muy variable así como el patrón de unión de cada residuo al comparar hombre y rata. Esto es indicativo de la unión no

sólo depende del caracter hidrófobo del residuo, sino también de interacciones moleculares específicas entre el residuo y el sustrato transportador. El HCB se caracteriza por la elevada contribución de la fracción de "proteínas" y de los componentes celulares.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración del Departamento de Farmacología y del Dr. Pere Puig por las facilidades y asesoramiento en el uso de la ultracentrífuga.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- MALIWAL BP, GUTHRIE FE. In vitro uptake and transfer of chlorinated hydrocarbons among human lipoproteins. J. Lipid Res. 1982, 23, 474-479.
- 2.- VOMACHKA MS, VODICNIK MJ, LECH JJ. Characteristics of 2,4,5,2',4',5'-hexachlorobiphenyl distribution among lipoproteins in vitro. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1983. 70, 350-361.
- 3.- SKALSKY HL, GUTHRIE FE. Binding of insecticides to human serum proteins. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1978. 43, 229-235.
- 4.- SOINE PJ, BLANKE RV, GUZELIAN PS, SCHWARTZ CC. Preferential binding of chlordecone to the protein and HDL fractions of plasma from humans and other species. J. Toxicol. Environ. Health. 1982. 9, 107-118.
- 5.- ROBOZ J, GREAVES J, MCCAMISH M, HOLLAND JF, BEKESI G. An in vitro model for the binding of polybrominated biphenyls in environmental contaminated blood. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1985. 14, 137-142.
6. POHLAND RC, COUNSELL RE. The role of high density lipoproteins in the biodistribution of two radioiodinated probes in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1985. 77, 47-47
7. HAVEL RJ, EDER HA, BRAGDON JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated

lipoproteins in human serum. J. Clin. Invest. 1985. 34,
1345-1353.

TABLA I

Distribución del HCB entre las fracciones lipoproteicas separadas por ultracentrifugación (24 horas después de la ingesta)

fracción	expl	exp2	exp3	x+SD
QM+VLDL	17.8	23.0	17.4	19.4+2.5
LDL	3.3	3.6	4.5	3.9+0.5
HDL	33.7	22.2	32.4	29.6+5.1
proteínas	45.2	50.6	45.7	47.2+2.4
conc (ppm)	1.28	1.18	0.78	

TABLA II

Distribución de pp'-DDE entre las fracciones lipoproteicas separadas por ultracentrifugación (24 horas después de la ingesta)

fracción	expl	exp2	exp3	x+SD
QM+VLDL	41.8	40.9	41.1	41.3+0.4
LDL	18.0	17.6	16.6	17.4+0.6
HDL	35.0	34.2	30.7	33.3+1.9
proteínas	5.1	7.3	11.5	8.0+2.6
conc (ppm)	3.05	3.21	3.32	

Tabla III

Reparto entre plasma y células de derivados alquilados de clorofenoles en sangre de rata (in vitro)

	P/H	P/ST	Conc (ppb)
2,4,6-TCF-Met	0.070+0.009	0.065+0.008	800
2,4,5-TCF-Met	0.096+0.010	0.087+0.009	300
2,3,4-TCF-Met	0.55 +0.01	0.355+0.004	500
2,3,4,5-TeCF-Met	0.225+0.005	0.183+0.003	800
PCF-Met	0.050+0.005	0.047+0.004	200
TCHQ-Met	0.044+0.007	0.043+0.008	500
PCF-Et	0.048+0.002	0.046+0.002	200

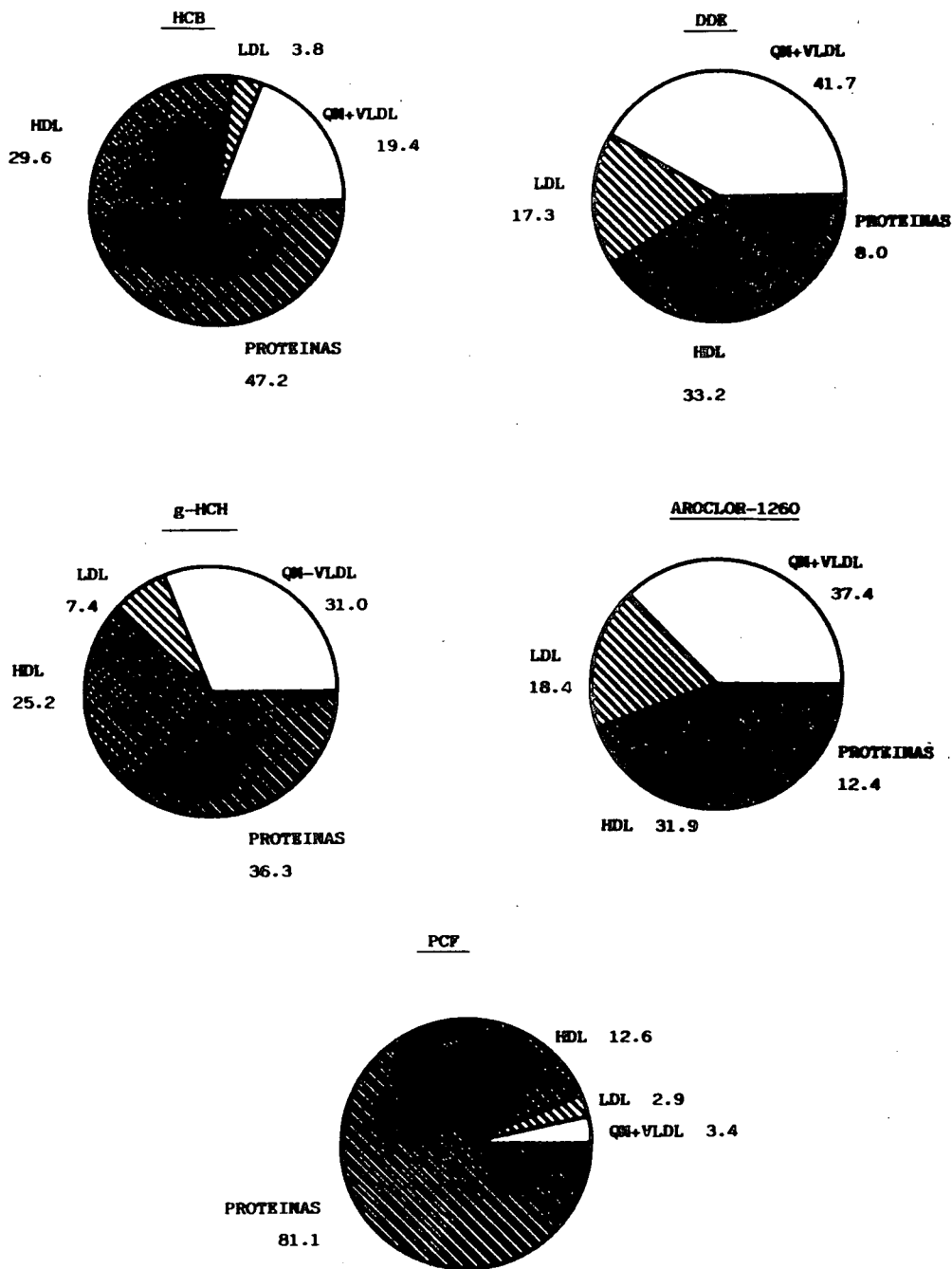


FIGURA 1 Patrón de unión de varios residuos organoclorados a los componentes plasmáticos de la sangre de rata.

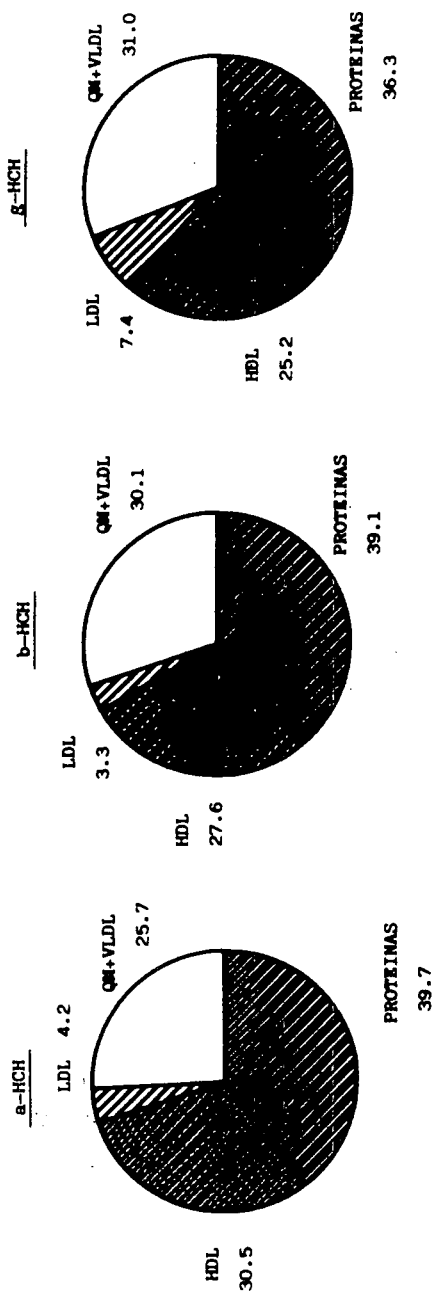
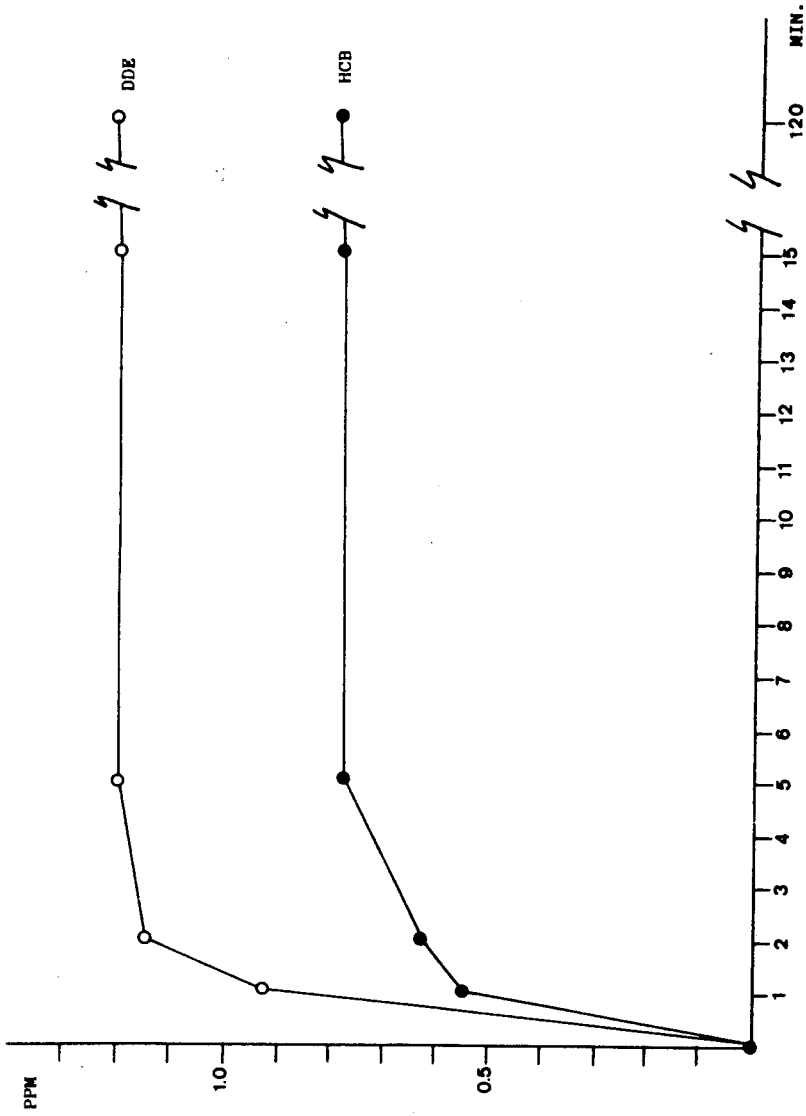


FIGURA 2 Patrón de unión de tres isómeros del HCH a los componentes plasmáticos de la sangre de rata.



CURVAS DE INCORPORACION DE HCB Y DDE AL PLASMA "IN VITRO"
 FIGURA 3

HCB

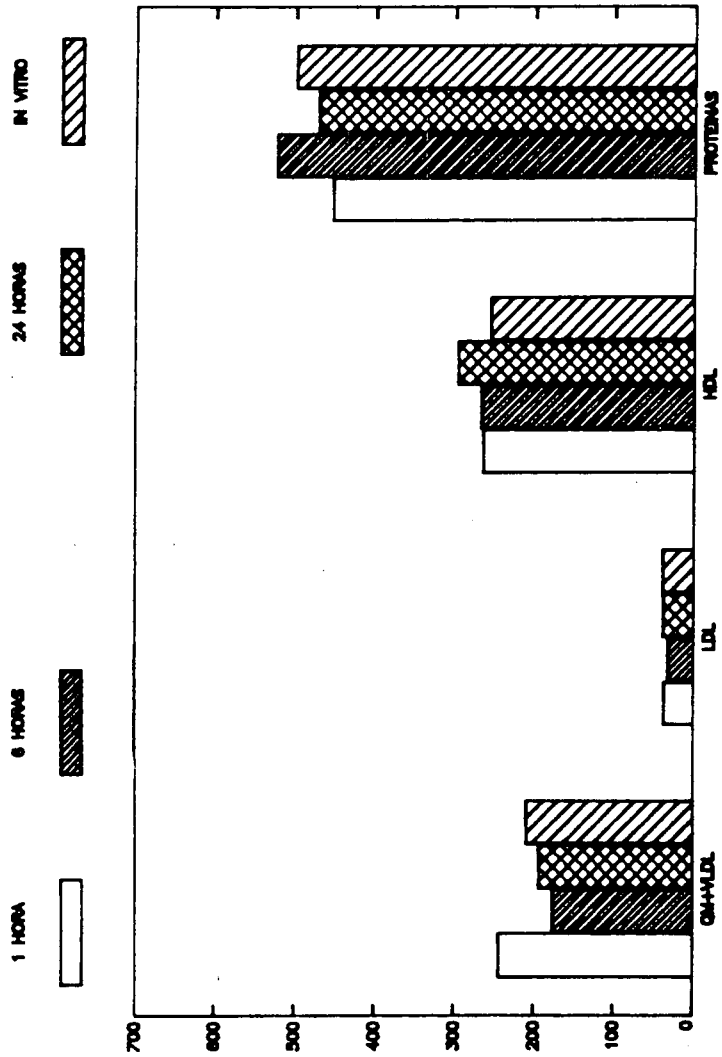


FIGURA 4. Comparación del patrón de unión del HCB a diferentes periodos post-ingesta e "in vitro".

DDE

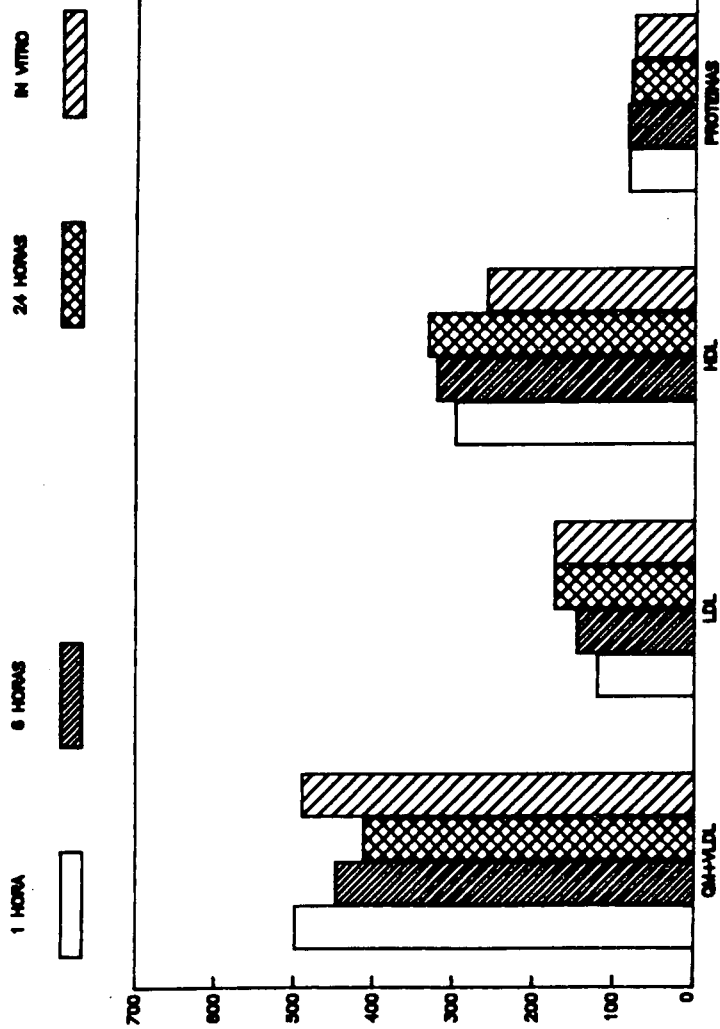


FIGURA 5. Comparación del patrón de unión de DDE a diferentes periodos post-ingesta e "in vitro".

gHCH

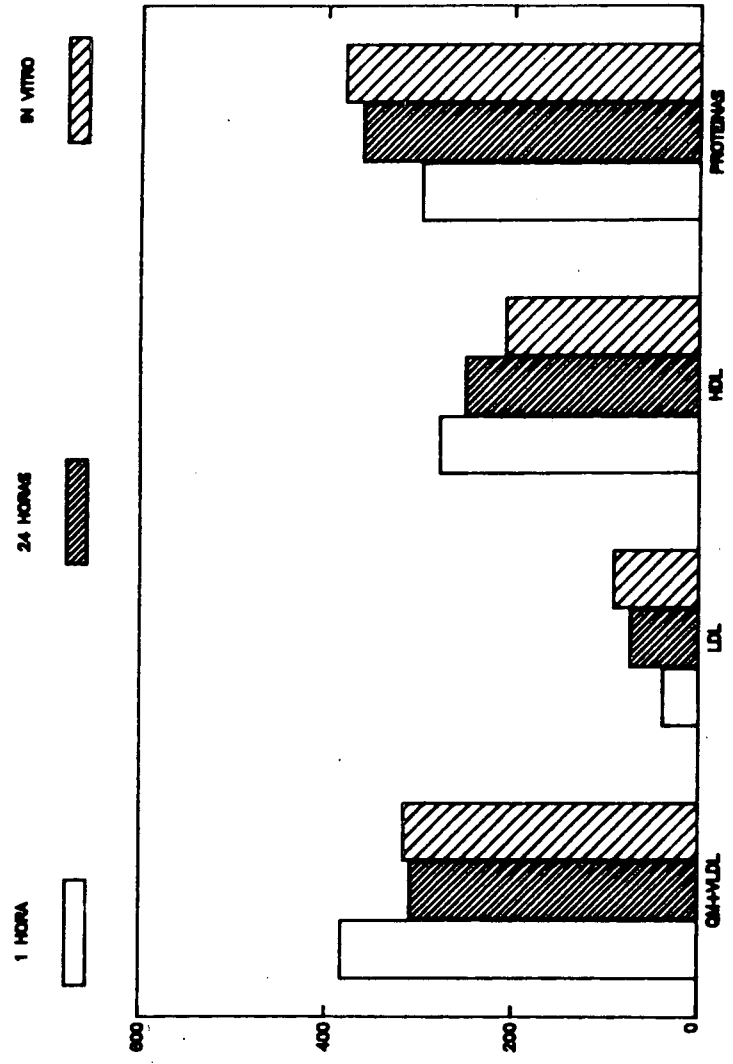


FIGURA 6. Comparación del patrón de unión de unión del g-HCH a diferentes periodos post-ingesta e "in vitro".

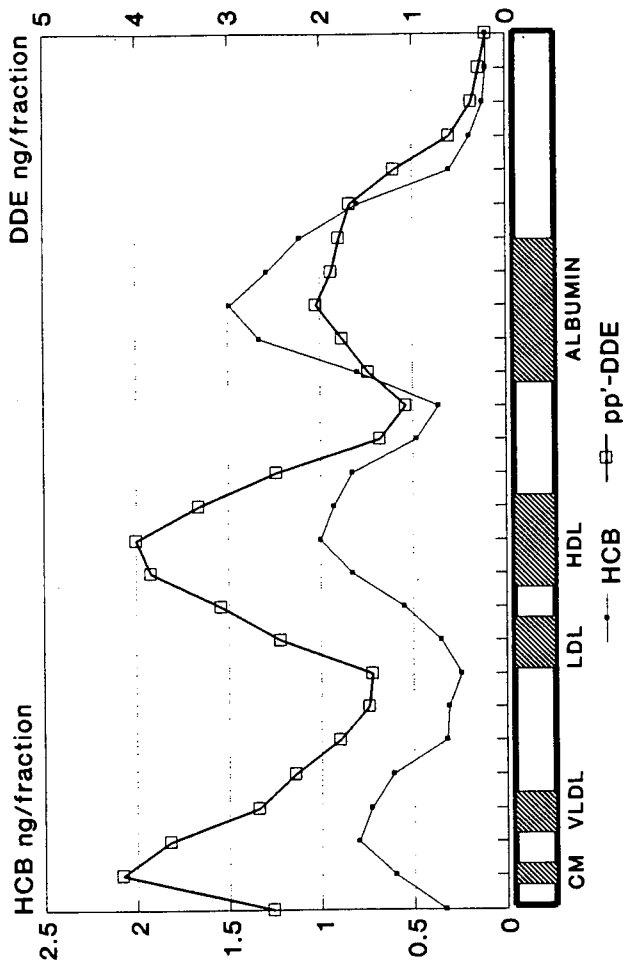


FIGURA 7
 Distribución de HCB y DDE entre las fracciones
 separadas por electroforesis en gel de acrilamida

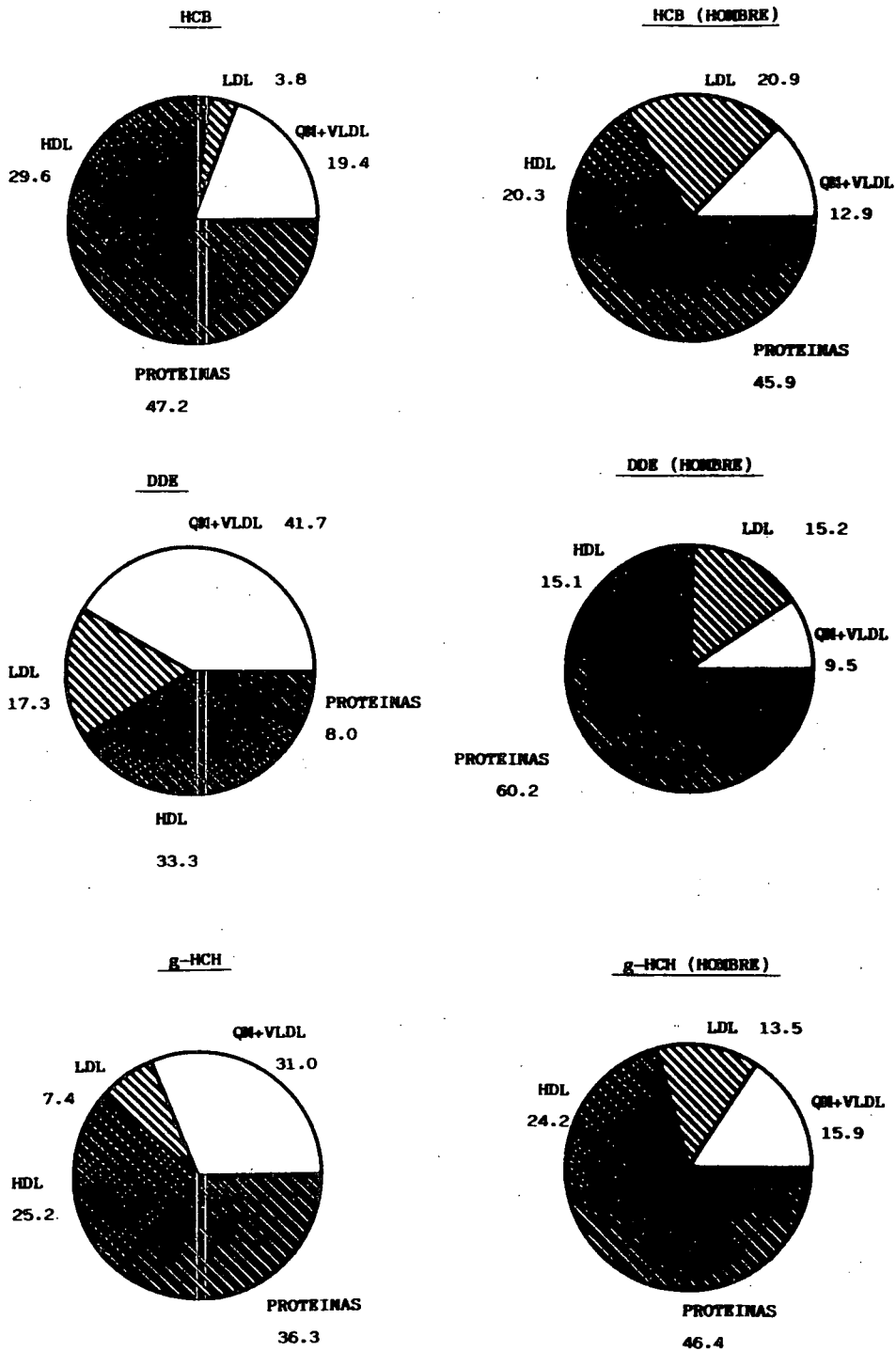


FIGURA 8. Comparación de los patrones de unión plasmáticos en la rata y el hombre.

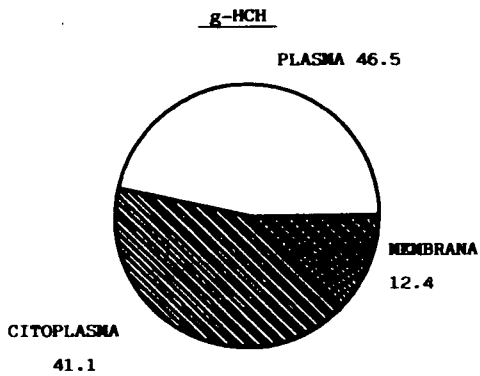
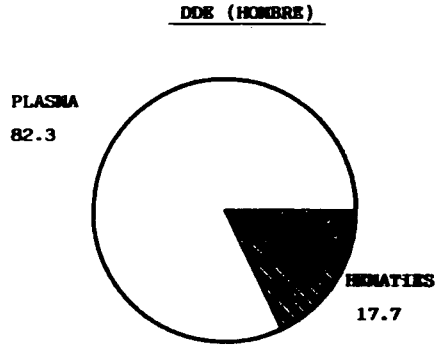
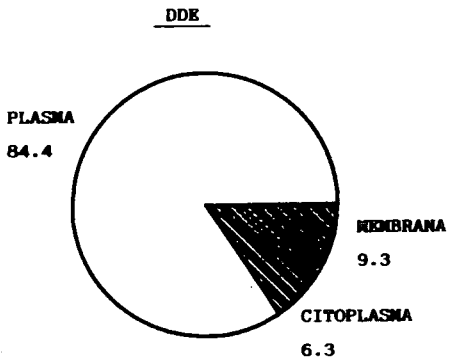
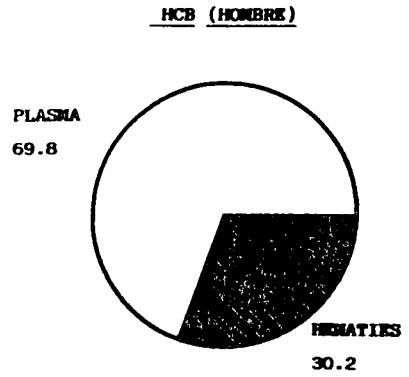
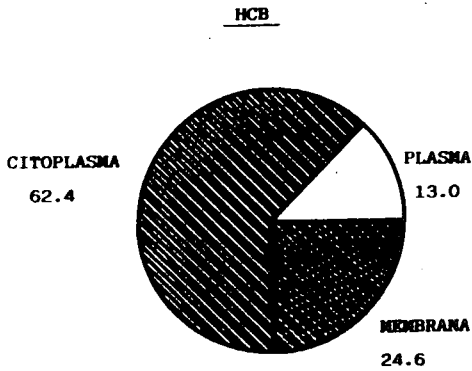


FIGURA 9. Reparto de los residuos entre plasma y hematíes en la sangre de rata y del hombre.

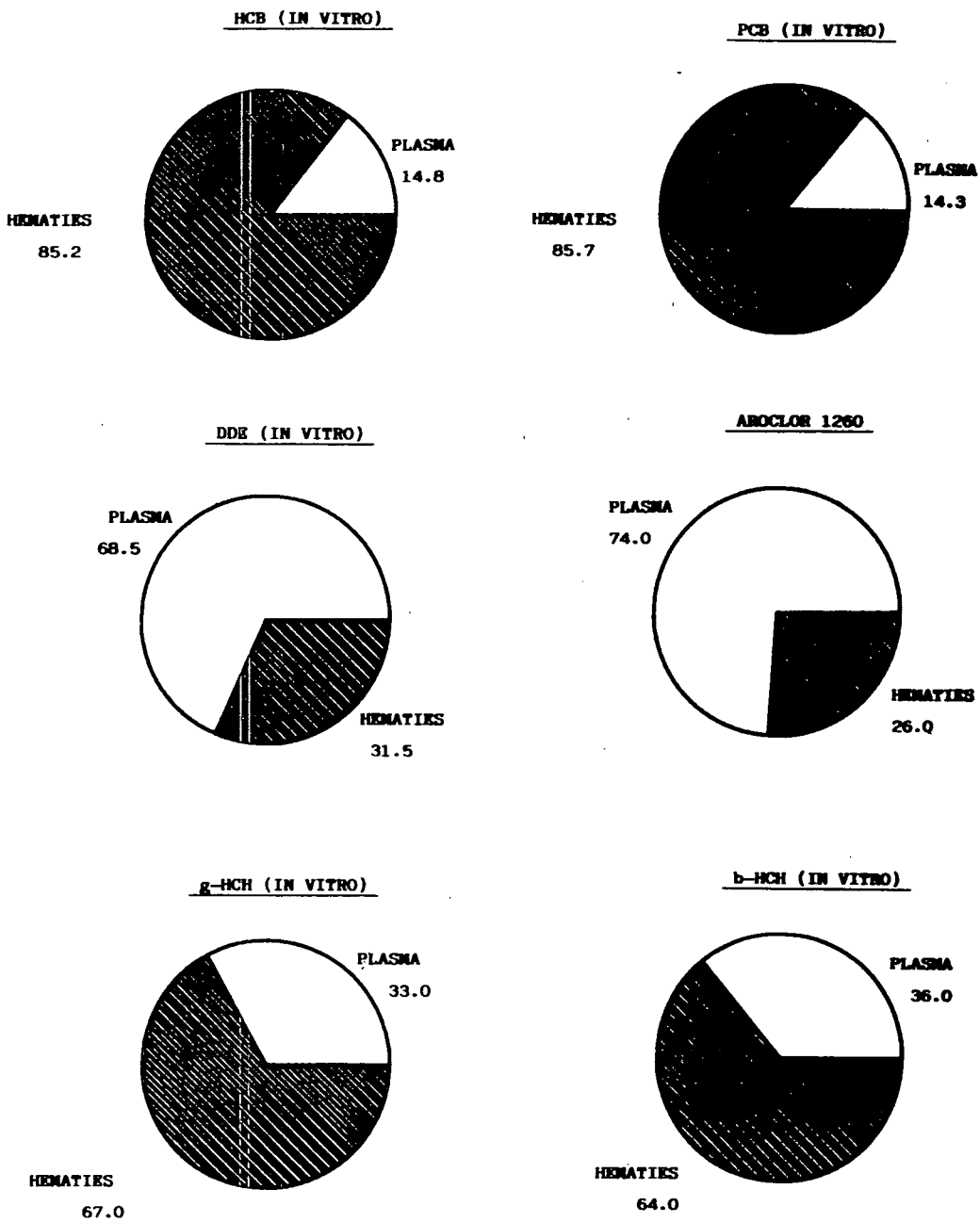


FIGURA 10. Reparto "in vitro" de varios residuos entre plasma y hematíes en la sangre de rata.

**TRANSPORTE DE HCB EN LA SANGRE. II: EFECTOS SOBRE LA CINETICA
DE DISTRIBUCION**

J. GOMEZ-CATALAN, J. TO-FIGUERAS.

U.E.R. Medicina Legal, Laboral i Toxicologia. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona.

La unión de los residuos organoclorados a diferentes sustratos de la sangre puede tener consecuencias en su distribución en el organismo. En el caso concreto de la unión a lipoproteínas plasmáticas, éstas están sometidas a un metabolismo complejo, que incluye su unión a receptores específicos localizados en los capilares de determinados tejidos. La unión de la lipoproteína al receptor puede facilitar la cesión del residuo al tejido correspondiente, de la misma manera que facilita la cesión de sus propios componentes, en especial cuando la unión al receptor va seguida de un proceso de endocitosis de la lipoproteína.

Sin embargo, la unión del residuo a la lipoproteína sólo tendrá consecuencias importantes en la cinética de distribución del residuo si esta unión es suficientemente estable: si la velocidad de intercambio del residuo entre las partículas de lipoproteína y medio acuoso es muy superior a la velocidad de los procesos metabólicos de las lipoproteínas, la cesión mediada por la unión a receptores será insignificante respecto a la cesión por difusión pasiva.

Algunas experiencias de otros autores muestran que la unión de algunos residuos organoclorados a las lipoproteínas es muy débil, produciéndose un intercambio total entre las diferentes familias de lipoproteínas en menos de un minuto (1). Esto contrasta con las velocidades de intercambio de los

componentes endógenos: fosfolípidos y colesterol presentan unas vidas medias de varios minutos (2, 3, 4).

La unión de los residuos a las lipoproteínas también puede incidir sobre el metabolismo lipídico: la presencia del residuo puede producir alteraciones en la conformación de las apolipoproteínas encargadas del reconocimiento por parte de los receptores y, por tanto, inhibir la cesión de los lípidos a los tejidos.

De hecho, se ha descrito el efecto de un análogo del DDD que inhibe la incorporación de colesterol a la glándula suprarrenal (5). Esta incorporación viene mediada principalmente por un receptor de HDL. También están descritas alteraciones del metabolismo lipídico causadas por PCBs a nivel experimental y correlaciones, en población humana, entre valores elevados de lípidos plasmáticos y concentraciones de residuos organoclorados. Todos estos fenómenos podrían ser explicados por el mecanismo propuesto anteriormente (5).

Nosotros hemos estudiado el primer aspecto, determinando la cinética de distribución hacia los tejidos de HCB y pp'-DDE tras una ingesta de una dosis única y comprobando si las diferencias observadas pueden ser explicadas por su diferente patrón de unión a los componentes sanguíneos (6). Por otra parte, se ha investigado la estabilidad de la unión residuo-componentes sanguíneos determinando el grado de retención de los residuos en una columna de fase reversa al eluir a su través una muestra de plasma o sangre.

MATERIAL Y METODOS

Las ratas, Sprague-Dawley hembras, fueron tratadas con una dosis oral única de HCB o pp'-DDE, disuelto en carboximetilcelulosa/aceite de maíz 50:50. Se sacrificaron tras períodos de 2, 12 y 24 horas (cuatro ratas en cada grupo). La sangre se obtuvo por punción cardíaca. Los tejidos -hígado, cerebro y tejido adiposo- se congelaron a -30°C hasta el momento de su análisis.

Los ensayos de la estabilidad de la unión residuo-transportador se efectuaron eluyendo 1 ml de la muestra

(plasma, sangre total o suspensión de hematíes en suero fisiológico) a través de una columna Sep-Pak de fase reversa C18. La elución se realizó con 2 ml de suero fisiológico y presión positiva mediante una jeringa. El tiempo de residencia de la muestra en la columna era de 9-10 segundos. Previamente se comprobó que la columna no retenía apreciablemente las proteínas plasmáticas ni los hematíes, pero sí retenía cuantitativamente los residuos en solución acuosa.

Los análisis de las diferentes muestras se realizaron mediante ECD-GLC, tras extracción con hexano: éter. 50:50 y purificación del extracto con ácido sulfúrico.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se ha determinado la distribución de HCB y pp'-DDE en plasma, hígado, cerebro y tejido adiposo a las 2, 12 y 24 horas de la ingesta. Los resultados obtenidos muestran una considerable dispersión debido a las diferencias interindividuales. Sin embargo, la dispersión disminuye drásticamente cuando se consideran los cocientes de concentración entre los diferentes tejidos. En la figura 1 se muestran gráficamente los cocientes de las concentraciones de HCB y DDE entre los tres tejidos y el plasma.

Destaca, en primer lugar, la lentitud con que la concentración de los residuos en el tejido adiposo se equilibra con la concentración plasmática, si se compara con el comportamiento de hígado y cerebro: los cocientes tejido/plasma a las 2 horas son muy inferiores a los que se tienen a las 12 y 24 horas para el tejido adiposo, mientras que para el cerebro y el hígado la diferencia no es tan marcada. Esta lentitud relativa en el aporte de residuos al tejido adiposo se explica por la menor vascularización de este tejido y por la mayor cantidad de residuo que acabará acumulando. De hecho, la velocidad con se transfiere HCB y DDE al tejido adiposo es superior a la de los otros tejidos: los cocientes tejido/plasma son mayores para el tejido adiposo que para los otros tejidos ya a las dos horas.

El hígado ya ha alcanzado concentraciones máximas a las dos horas, existiendo un rápido equilibrio con el plasma, tanto para el HCB como para el DDE. Sin embargo, los

cocientes determinados en el período de 24 h. no corresponden todavía a las condiciones de equilibrio finales, que se alcanzan al cabo de varios días, posiblemente debido a la existencia de una absorción intestinal residual. El rápido equilibrio hígado/plasma hace que no se observen diferencias entre las cinéticas de HCB y DDE. Sin embargo, en el caso del tejido adiposo, la distribución del HCB es mucho más rápida que la del DDE: los cocientes adiposo/plasma son siempre superiores para el HCB y esta diferencia es mayor en los primeros momentos (2 horas). De hecho, en el estado final de equilibrio, que se alcanza al cabo de varios días, el cociente es superior para el DDE.

En el cerebro se observa, aunque en menor grado, el mismo fenómeno: HCB es incorporado más rápidamente que DDE; a las dos horas el HCB ya ha alcanzado concentraciones máximas en el cerebro, mientras que para el DDE el cociente cerebro/plasma es sólo una tercera parte del valor alcanzado a las 24 horas.

Estos resultados sugieren una mayor facilidad del HCB para ser cedido a los tejidos, en especial el tejido adiposo. Sin embargo, si la unión a las lipoproteínas fuera un factor condicionante de la distribución de los residuos cabría esperar, en ausencia de otros factores, el resultado contrario, ya que el DDE se une en una fracción mayoritaria a quilomicrones + VLDL -lipoproteínas para las cuales el tejido adiposo tiene receptores específicos- mientras que para el HCB estas lipoproteínas sólo suponen una aportación minoritaria a su transporte plasmático (6).

La elución de las muestras de sangre, suero y suspensión de hematíes a través de una columna de fase reversa capaz de retener los residuos organoclorados permite efectuar una evaluación de la estabilidad de la unión de éstos a sus transportadores. La fase reversa adsorber el residuo que esté libre en el medio acuoso, que en condiciones de equilibrio sera una fracción despreciable. Si se produce una retención importante en la columna, significa que durante el tiempo de residencia de la muestra -9 a 10 segundos- se produce la liberación del residuo de sus transportadores al medio acuoso y de éste a la columna, indicando una unión débil entre residuo y transportador.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla I. Se observa que para el plasma se tiene una retención casi total del HCB, mientras que para el DDE es menor, pero considerable. Por tanto, ambos residuos presentan una unión muy débil, aunque más estable para el DDE.

En el caso de los hematíes también se produce una retención importante, indicativa de que el pool eritrocitario de residuos es también fácilmente movilizable y asequible al medio acuoso plasmático. En este caso la unión del HCB es más estable que la del DDE; ello puede ser debido a una unión más fuerte del HCB a los hematíes -concordante con el hecho de que el cociente hematíes/ plasma es superior para el HCB respecto al DDE- o a su localización mayoritariamente intracelular, a la inversa de lo que sucede al DDE eritrocitario, localizado mayoritariamente en la membrana (6).

Los resultados que se obtienen en la sangre coinciden con la combinación de los efectos observados en plasma y hematíes. En conjunto, el HCB sanguíneo está más fuertemente unido pero sus concentraciones -a igual carga corporal- son muy superiores a las del DDE.

Es posible calcular una cota superior para la vida media de la unión de las moléculas de HCB y DDE a sus transportadores plasmáticos a partir de los porcentajes de retención determinados: se obtienen valores de unos pocos segundos, siendo inferior para el HCB. La unión a hematíes es más estable, sobre todo para el HCB, pero aún así la vida media sería inferior a unos 25 segundos. Esto implica que la velocidad de intercambio a través del medio acuoso para estos residuos es muy superior a la de los procesos metabólicos de las lipoproteínas y, por tanto, este metabolismo no afectará apreciablemente a su distribución, ya que los residuos están constantemente en equilibrio entre los diferentes transportadores plasmáticos y fácilmente accesibles a los tejidos por difusión a través del medio acuoso del plasma. El pool eritrocitario también presenta una unión débil. Por tanto, la mayor movilidad del HCB plasmático y la accesibilidad del pool eritrocitario pueden explicar su cinética de distribución más rápida al tejido adiposo respecto al DDE.

BIBLIOGRAFIA

- 1.-MALIWAL BP, GUTHRIE FE. In vitro uptake and transfer of chlorynated hydrocarbons among human lipoproteins. J. Lipid. Res. 1982. 23, 474-479.
- 2.- MASSEY JB, GOTTO AM, POWNALL HJ. Kinetics and mechanism of the spontaneous transfer of fluorescent phosphatidylcholine between apolipoprotein-phospholipid recombinants. Biochemistry. 1982. 21, 3630-3636.
- 3.- MASSEY JB, HICKSON D, SHE HS, SPARROW JT, VIA DP, GOTTO AM, POWNALL HJ. Measurement and prediction of the rates of spontaneous transfer of phospholipids between plasma lipoproteins. Biochim. Biophys. Acta. 1984. 794, 274-280.
- 4.- IHM J, HARMONY JAK. Simultaneous transfer of cholesteryl ester and phospholipids by proteins isolated from human lipoprotein-free plasma. Biochem. Biophys. Res. Comm., 1980. 93, 1114-1120.
- 5.- POHLAND RC, COUNSELL RE. The role of high density lipoproteins in the biodistribution of two radioiodinted probes in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1985. 77, 47-47.
- 6.- GOMEZ-CATALAN J. , TO-FIGUERAS J. , RODAMILANS M. , CORBELLA J. Transporte de HCB en la sangre. I: Determinación del patrón de unión del HCB a los componentes celulares y macromoleculares. las Jornadas Nacionales sobre Hexaclorobenceno, Barcelona, mayo 1988.

TABLA I

Retención de HCB y DDE en el cartucho C18 Seppak a partir de sangre total, plasma y hematies de rata. Concentraciones antes de la elución (Co, ng/ml), después de la elución (Cf) y porcentaje retenido en el cartucho (R).

Muestra	Residuo	Co (ng/ml)	Cf (ng/ml)	R
Sangre Total	HCB	40.1± 1.0	27.4± 0.3	31.7
	DDE	43.6± 0.8	19.7± 2.7	54.8
Plasma	HCB	64.8± 0.3	3.6± 0.5	94.4
	DDE	102.4± 0.4	39.5± 1.4	61.4
Células	HCB	34.8± 0.5	26.6± 2.8	23.6
	DDE	60.5± 0.9	28.1± 6.4	55.6

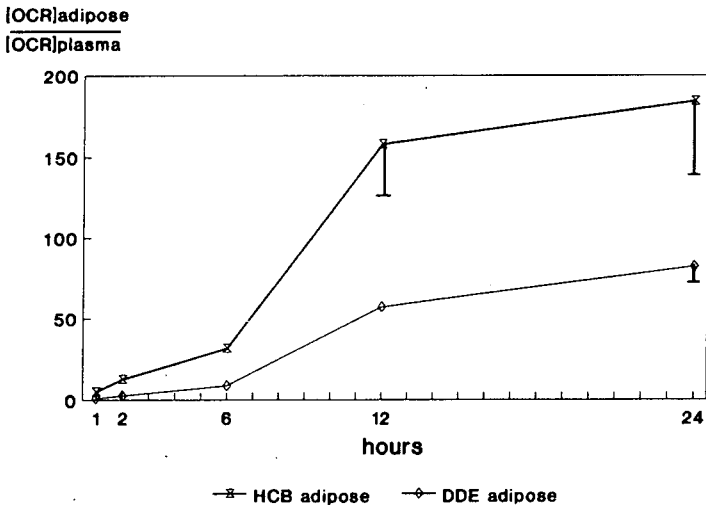
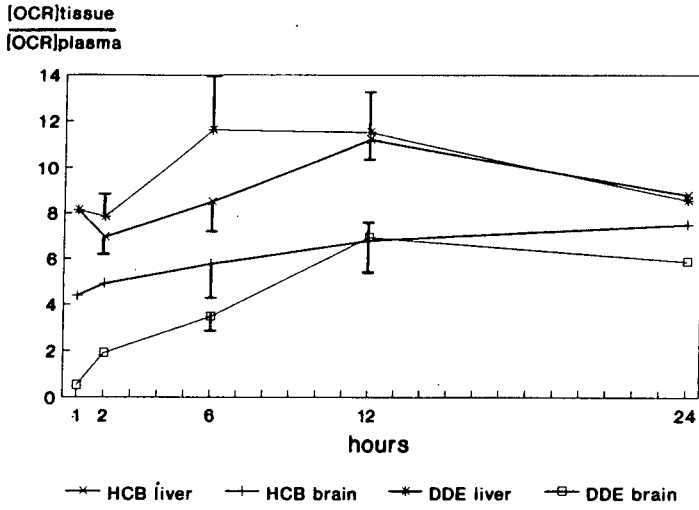


FIGURA I
Evolución de la distribución de HCB y DDE en varios tejidos de rata tras una dosis única.

**EPIDEMIOLOGIA DEL HEXACLOROBENENO EN ESPAÑA. PROPUESTAS DE
ACTUACION**

J.I. ELORRIETA

Instituto de Salud Pública de Navarra.

EPIDEMIOLOGIA DEL HCB EN ESPAÑA

En las distintas ponencias, comunicaciones y posters se ha dado una idea de lo que se conoce del Hexaclorobenceno en España. Intentando en esta ponencia pasar de lo fragmentario, que supone cada uno de los trabajos concretos, a lo general que supone el conjunto de todos ellos, se obtiene la primera aproximación sobre la epidemiología del HCB en España.

En ella merece la pena destacar:

1º.- En España, al menos según las distintas fuentes oficiales (Ministerio de Sanidad, Ministerio de Agricultura e incluso la misma AEPLA) el uso del HCB como fungicida ha sido relativamente escaso y salvo excepciones puntuales, como la reseña por un equipo de Atención Primaria en un pueblo de la Comunidad de Castilla-León (uso de Tizoneb compuesto de Macozeb y HCB), hace bastante tiempo que no se utiliza.

Una estima general de ello se nos presenta en el cuadro de Ripper y Frank (Tabla 1).

2º.- Sin embargo y en contraste con lo anterior, en España se presentan los siguientes resultados paradójicos:

a) Aparece HCB en todas las muestras humanas analizadas, ya sea en leche materna, suero o tejido adiposo.

b) Las concentraciones medias en las que aparece, tanto en tejido adiposo (To Figueras y col.), como en leche materna (Carmen Conde) son superiores a las observadas en la mayoría de los países desarrollados.

Así, en tejido adiposo, la media de varios estudios realizados por la Facultad de Medicina de Barcelona es de 3 ppm.

Determinaciones realizadas por To-Figueras y col. encuentran $5,55 \pm 0,78$ ppm (1985) sobre el tejido total, muy superiores a los que se observan en otros países:

BELGICA	1,36 ppm	JAPON	0,13 ppm
POLONIA	0,33 ppm	BARCELONA	5,55 ppm
ITALIA	0,49 ppm	LERIDA	3,58 ppm
REINO UNIDO	0,05 ppm	REP. F. ALEMANA	5,6 ppm *
U.S.A.	0,037 ppm	GRECIA	3,84 ppm
CANADA	0,078 ppm		

* 1980

Sólo pues, la República Federal Alemana, que hasta 1980 no prohibía el uso del HCB como fungicida, y Grecia presenta niveles tan altos como los españoles.

Con relación a los residuos en Leche Materna, encontramos una situación similar:

AUSTRIA	1,24 ppm	MADRID	1,116 ppm
BELGICA	1,17 ppm	NAVARRA	1,727 ppm
FRANCIA	0,98 ppm	AREVALO	2,272 ppm
ALEMANIA	0,59 ppm	BARCELONA	2,619 ppm
LUXEMBURGO	0,56 ppm	SEGOVIA	3,208 ppm
GRECIA	0,11 ppm	BILBAO	3,780 ppm

SUIZA	0,5-1,0 ppm
AUSTRALIA	1,23 ppm
HAWAI	0,04 ppm

c) De todos los residuos buscados en Navarra, tanto en leche materna (Carmen Conde, 1987) como en suero (Instituto de Salud Pública de Navarra), los niveles medios de HCB resultan los más elevados comparados con los de Lindano, B-HCH, pp'-DDT, pp'-DDE y pp'-DDD.

d) No parece existir ningún tipo de correlaciones entre las concentraciones encontradas en el tejido adiposo con la edad (To-Figueras, Rodamilans). Ni tampoco con su presencia en leche materna, con la distribución geográfica (zonas agrícolas o no, huerta familiar o no), primeriza en lactancia materna o no, aumento de peso en el embarazo + - 10 Kg., sobrepeso o hábitos tabáquicos o no, según se desprende del Programa de Seguridad Química frente a Pesticidas en Navarra (1987).

e) A nivel de medio ambiente, aparece con bastante frecuencia en aguas brutas, tanto superficiales como subterráneas:

ej.:	Pantano de Eugui	1 ng/L	(ppt)
	Manantial de Izaga	1,6 ng/L	(ppt)

Una característica propia es que siempre que hemos encontrado HCB en aguas, hemos encontrado Lindano, lo cual sugiere la idea de la formación del HCB a partir del Lindano, plaguicida amplísimamente utilizado en nuestro país; y ya demostrado por Engst et al. (1979) para distintos microorganismos y plantas.

También está descrita, a nivel internacional, su producción, ligada a la incineración de residuos sólidos municipales, que normalmente contienen derivados del benceno y compuestos clorados. (Rippen 1985), tanto en Suecia, Japón,

Canadá y Holanda (Eiceman et al. 1979). Esto puede ser importante en nuestro país, en donde la gestión de los residuos sólidos no está del todo resuelta y la combustión espontánea de los vertederos está esparcida por toda nuestra geografía, existiendo además incineradores de residuos sólidos en:

UBRIQUE (Cádiz), PALMA DE MALLORCA (Mallorca), SAN ADRIAN DEL BESOS, MONTCADA I REIXAC Y CASTELLTERÇOL (Barcelona), GIRONA, LLIVIA (Girona), TRUJILLO (Badajoz), VIGO (Pontevedra), LABAYEN (Navarra), MONDRAGON, USURBIAL, ITXASONDO, ANDOAIN, LEGAZPIA (Guipúzcoa). (ver figura adjunta).

f) Aparece también en los alimentos, especialmente en los productos de origen animal; carnes, tocinos, huevos, mantequilla y, en general, en la leche y todos sus derivados.

Así, tanto en los trabajos pioneros de Pozo Lora (1979) como en los más recientes de To-Figueras (1985), aparece como una importante vía de contaminación.

Como se aprecia en estos datos, en las zonas en las que el consumo de estos productos es elevado, hay una ingesta considerable de HCB. (No se tienen en cuenta aquí los niveles encontrados en leche materna, reseñados anteriormente y que constituyen el alimento único para el lactante) (Tabla 2).

Estos datos sugieren la contaminación del alimento de los animales y, aunque desgraciadamente no conozca datos al respecto en nuestro país, se ha descrito en otros países la contaminación de los piensos tratados con HCB y de algunos vegetales dado el carácter bioacumulador y biomagnificador que presenta el HCB en la cadena trófica (Greve 1985).

g) A un nivel más puntual aparece también como fuente de contaminación importante la inhalación y la exposición al HCB en una serie de actividades laborales, que van desde los aplicadores de plaguicidas, que utilizan aquellos que contienen importantes impurezas de HCB (Pentacloro nitrobenceno, pentaclorofenol, diclorano, etc.) hasta los trabajadores relacionados con la electrometalúrgica, los plásticos, las lacas, la preservación de las maderas, la

producción de cloro, tetracloruro de carbono, percloroetileno, tricloroetileno, pentaclorobenceno, etc.

A título indicativo se presenta un primer censo de una veintena de industrias que producen o manufacturan productos importados que pueden ser fuente de residuos de HCB, aunque no se conoce la importancia relativa de cada una de ellas por no tener acceso a los datos cuantitativos de producción o de importación de sus productos.

En la Figura 1 se aprecia que estas industrias se distribuyen en 10 Comunidades Autónomas, encontrándose 7 de ellas en Cataluña. Los productos que estas industrias manufacturan son diversos (fundamentalmente disolventes) pero dada la posterior utilización de dichos productos de distribución del HCB en nuestro país, hay que considerarla como muy generalizada.

Derivados Electroquímicos, Levante. S.A

=====

- lejía de sosa, sosa caústica, hidrato de sodio.
- Ubicación: Franquesas del Valles (Barcelona).

Electro Química Hernani S.A

=====

- lejía de sosa, sosa caústica, hidrato de sodio, sodio, cloro líquido.
- Ubicación: Hernani.

Elnosa. Electroquímica del Noroeste. S.A

=====

- lejía de sosa, sosa caústica, hidrato de sodio, sodio, cloro líquido.
- Ubicación: Pontevedra.

Solvay y Cie. S.A

=====

- lejía de sosa, sosa caústica, hidrato de sodio, tetracloruro de carbono, percloro, tricloroetileno, tetracloroetano, burjal.
- Ubicación: Torrelavega (Santander), Martorell (Barcelona).

Energia e Industrias Aragonesas. S.A

=====

- Sodio metálico, clorato de sodio.
- Ubicación: Huesca (Sabiñánigo), Tarragona (Vilaseca), Huelva (Palos de la Frontera).

Hoechst Ibérica. S.A

=====

- Sodio, cloro líquido, disolventes.
- Ubicación: Tarragona, San Feliu.

Jaber. S.A

=====

- Disolventes, Tolueno.
- Ubicación: Móstoles.

Monsanto España. S.A

=====

- Benzol, monocloruro de benzol, cloruro bencilo, orto y paradicloruro de benzol, naftalina, dicloruro de propileno, triclorotolueno.
- Ubicación: Huesca (Monzón).

Unión Explosivos Río Tinto. S.A

=====

- Productos químicos orgánicos.
- Ubicación: Tarragona, Palencia (Guardo), Bilbao (Asua).

Uniroyal

=====

- Pentaclorobenceno.
- Ubicación: Madrid.

Maso

=====

- Dimetil; Clortalonil.
- Ubicación: Barcelona.

Grima

=====

- Clortalonil.
- Ubicación: Valencia.

Ciba

=====

- Triosina.
- Ubicación: Pamplona.

Edefi

=====

- Triosina.
- Ubicación: Madrid.

h) Aunque existen descritas en la literatura otras fuentes de exposición al HCB, como la cloración del agua, la afinidad del HCB por los sólidos en suspensión, eliminados normalmente en los tratamientos potabilizadores hacen a nuestro entender, el que salvo en lugares muy puntuales, esta fuente u otras son de menor importancia. Mayor importancia tendría, aunque tampoco está evaluada, su concentración en los lodos de las plantas de aguas residuales, que son utilizadas como materiales para compostaje.

32.- Por último y, a diferencia de lo que parece está ocurriendo en la mayoría de los países de Europa en donde se observa una clara tendencia a la disminución desde los años 70., hasta situarse por debajo de 1 mg/K fb en la leche materna, en nuestro país los valores medios siguen siendo altos (~ 2.5 ppm, Carmen Conde 1987), dentro del mismo rango de Austria (2 mg/Kg fb) y Checoslovaquia (4 mg/Kg fb).

	<u>AÑOS 70</u>	<u>AÑOS 80</u>
Alemania	5 mg/Kg fb	0.35 mg/Kg fb
Bélgica	1.04 "	0.3 mg/Kg
Dinamarca	0.24 "	0.13 "
Francia	-----	0.98 "
Inglaterra	-----	0.14 "
Holanda	-----	0.86 "
Finlandia	-----	0.06 "
Yugoslavia	-----	0,21 "

(Fuente: WHO-EURO)

Desgraciadamente no es posible comparar los datos obtenidos en 1979 por Pozo Lora (3.515 ppm) con los de Carmen Conde (2.5 ppm) por la diferente metodología analítica empleada, ya que en el caso de ésta última se utiliza además Espectrofotometría de Masas como confirmatoria del pico cromatográfico.

Sea como fuere, los niveles encontrados son altos con relación a Europa y se hace necesario desarrollar una estrategia que nos permita descender estos niveles por debajo de 1 mg/Kg fb en leche materna.

PROPUESTAS DE ACTUACION

I.- La amplia distribución del HCB encontrada en fluidos humanos en España (100% de todas las muestras) sugiere que la principal vía de contaminación es la alimentación. Hecho que concuerda, tanto con la aparición en leche materna, como en su presencia en los alimentos de origen animal. La principal línea de control debe pues centrarse en la alimentación.

Dentro de ello, se propone:

* El control sistemático de los piensos o de sus componentes, garantizando que aquellos que provienen de la exportación no hayan sido tratados con HCB o insecticidas que lo lleven como impureza.

* Se propone su control sistemático en la mantequilla ya que ésta parece ser el mejor indicador de contaminación ambiental en este producto.

II.- El impacto del HCB puede también ser fácilmente controlado fijando unos niveles máximos para HCB en la formulación de los pesticidas que lo contienen como impureza. Esta medida no sería demasiado costosa y debería ser discutida con AEPLA (Asociación Española de Plaguicidas).

III.- Deben intensificarse las medidas de protección a los trabajadores que están inmersos en procesos de producción en los que se manejan productos que pueden ser fuente de residuos de HCB. Periódicamente, a los trabajadores más expuestos, deberían controlarseles los niveles de HCB, para lo cual sería interesante desarrollar por los expertos y en base al conocimiento del metabolismo del HCB el correspondiente protocolo.

IV.- Deben intensificarse las medidas de protección sobre el medio ambiente, ello trae consigo un estudio y un mayor control especialmente en todos los procesos derivados de los tratamientos y usos de los diferentes residuos. Dentro de ellos, merece la pena destacar:

* El control de los niveles de HCB en las fuentes de incineración de los residuos sólidos.

* El control de los niveles de HCB en los sedimentos (lodos) de las depuradoras de agua, antes de su uso como regeneradores orgánicos de suelos en los que se siembran vegetales que los pueden bioacumular.

* Extremar las precauciones en el uso del Lindano, masivamente utilizado en nuestro país, especialmente en los casos en que este insecticida puede alcanzar las fuentes de agua potable.

V.- De acuerdo con todo lo anterior, parece necesario proponer el desarrollo de un Programa de Control y Seguimiento de HCB en España, incluido dentro del Programa Internacional de Seguridad Química que, en colaboración con la O.M.S., lleva el Ministerio de Sanidad y Consumo.

Dentro de las grandes líneas de este Programa, se debería incluir:

a).- El efectuar y difundir evaluaciones del riesgo para la salud humana derivados de la exposición al HCB.

b).- El fijar las pautas para el control en la producción y en el uso de los productos con HCB, para adecuar las concentraciones de esta sustancia a los principios de orientación sobre límite de exposición en los alimentos, el aire, el agua, el suelo y el medio ambiente laboral. Esto implica la selección de indicadores en donde mantener la vigilancia.

c).- El establecer pautas de homologación, tanto en la metodología analítica apropiada para la medición del HCB, como para la evaluación de la exposición, los ensayos de toxicidad, los estudios epidemiológicos y clínicos, la evaluación de los riesgos y la apreciación de los peligros.

d).- La información sobre métodos para hacer frente a posibles accidentes derivados del uso del HCB, así como la intervención en casos de urgencia a petición de los interesados.

Tabla I

DATOS PUBLICADOS SOBRE LA PRODUCCION DE HCB (Ripper)

	AÑO	Volumen HCB (t/a) Producido/Importado	Referencia
MUNDIAL	1.978-81	10.000	Ripper (1.984) Pearson (1.982)
U.S.A.	1.972	1.100-1.200	Ripper (1.984) Frische (1.979)
		1.100-1.200 ^a	IARC (1.979)
		3.000	Muller (1.982)
	1.973	590	Stephenson (1.977)
		300	IARC (1.979)
1.975	Import. 100	IARC (1.979)	
Desde	1.976	No hay produc- ción comercial	Si Hing (1.980)
E.E.	1.978	8.000	Von Schuller (1.979) Ripper (1.984)
R. F. de ALEMANIA	1.974	4.000	Ripper (1.984)
	1.976	2.600	Ripper (1.984)
	1.980	5.000 ^b	Zeschnar (1.983)
		0.8-4.4 ^c	Merz
ESPAÑA		150	IARC (1.979)
JAPON	1.977	300 ^d	IARC (1.979)

a) Como residuos en la produccción de Hidrocarburos clorade

b) Como residuos en la producción de tetracloteno

c) Procedente de la incineración de residuos municipales

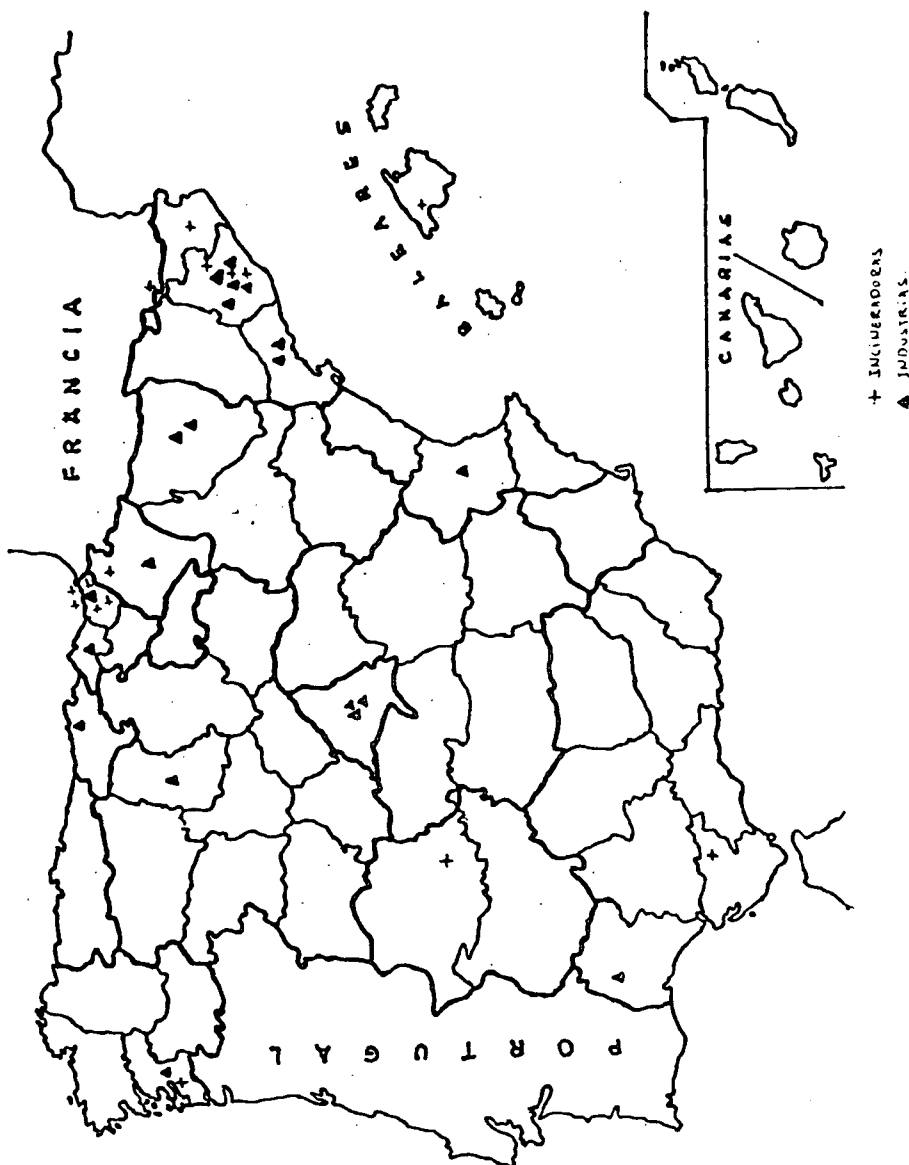
d) Como subproducto en la producción de tetracloteno, caso
completamente destruído por combustión.

Tabla II

POZO LORA	MEDIA (ppm, fb)	% MUESTRAS positivas	% MUESTRAS rebasan límite FAO/OMS
Leche natural de vaca (Andalucía)	0,654	74	30,4
Leche esterilizada de vaca (España)	0,278	98,78	13
Mantequilla	0,151	100	11,1
Leche maternizada en polvo	0,425	100	32,7

TO-FIGUERAS	MEDIA (ppb, wtb)		
Pollo	120	+/-	10
Ternera	249	+/-	37
Conejo	860	+/-	159
Cerdo	169	+/-	20
Cordero	225	+/-	35
Mantequilla	315	+/-	18

Figura I



Publicacions del Seminari Pere Mata, de la Unitat d'Ensenyament i Recerca de Medicina Legal i Laboral i Toxicologia de la Facultat de Medicina de la Universitat de Barcelona.

1. DOMENECH, Edelmira. "la Frenología". Análisis histórico de una doctrina psicológica organicista, 1977, 216 pp.
2. CAMPS i SURROCA, Manuel ; CAMPS i CLEMENTE, Manuel. Santuaris lleidetans amb tradició mèdica, 1981, 158 pp.
3. CALBET i CAMARASA, Josep M^a ; CORBELLA i CORBELLA, Jacint. Diccionari biogràfic de metges catalans, primer volum A-E, 1981, 194 pp. (Coedició amb la "Fundació Salvador Vives i Casajuana", Barcelona).
4. Programa del III Congrés d'Història de la Medicina Catalana, Lleida, 4-6 de juny de 1981, 32 pp (Coedició amb el Col.legi Oficial de Metges de Lleida).
5. Actes del III Congrés d'Història de la Medicina Catalana, Lleida 1981, primer volum, 346 pp.
6. HUGUET RAMIA, Emilio. Determinación del cadmio y plomo en las aguas de consumo, 1981, 90 pp.
7. MARTI AMENGUAL, Gabriel. El suicidio consumado en las Islas Baleares, 1981, 156 pp.
8. CALBET i CAMARASA, Josep M^a ; CORBELLA i CORBELLA, Jacint. Diccionari biogràfic de metges catalans, segon volum, F-G, 1982, 240 pp. (Coedició amb la "Fundació Salvador Vives i Casajuana", Barcelona).

9. CAMPS i CLEMENTE, Manuel ; CAMPS i SURROCA, Manuel. Aspectes sanitaris de l'Arxiu de Sant Joan de Lleida, 1983, 424 pp.
10. CALBET i CAMARASA, Josep M^a ; CORBELLA i CORBELLA Jacint. Diccionari biogràfic de metges catalans, tercer volum R-Z i Addenda, 1983, 348 pp. (Coedició amb la "Fundació Salvador Vives i Casajuana", Barcelona).
11. CORBELLA i CORBELLA, Jacinto ; CALBET i CAMARASA José M^a. El pensamiento sanitario y laboral de dos médicos anarquistas del siglo XIX, 1984, 172 pp.
12. Programa del I Congrés Català de Medicina del Treball, 1984, 36 pp.
13. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. I, 1984, 322 pp.
14. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. II, 1984, 346 pp.
15. ARRO y TRIAY, Francisco de Paula. Estadística médica de la compañía de ferrocarriles de Tarragona a Barcelona y Francia. (Reedición en facsímil de la edición de Barcelona de 1892), 1985, 162 pp. Coedició amb la Societat Catalana de Seguretat i Medicina del Treball i Ajuntament de Barcelona. Relació i estudi preliminar: J. Corbella.
16. CAMPS i SURROCA, Manuel ; CAMPS i CLEMENTE, Manuel. La pesta de meitats del segle XVII a Catalunya, Lleida, 1985, 424 pp.
17. Programa del IV Congrés d'Història de la Medicina Catalana, Monestir de Poblet - Tarragona, 7-9 de juny de 1985, 36 pp.
18. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. III, 1985, 470 pp.
19. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. IV, 1985, 396 pp.
20. ROBERT YARZABAL, B. Balance del siglo XIX. La Medicina. Edición y estudio preliminar: J.M. Calbet y J. Corbella, 1985, 68 pp.
21. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. V, 1986, 412 pp.
22. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. VI, 1986, 382 pp.
23. VIDAL, Domingo. Cirugía forense (1783). Edición y estudio preliminar: J. Corbella, 1987, XXIV + 96 pp.
24. MONTAÑA i BUCHACA, Daniel. Aspectes sanitaris dels Arxius de les parròquies del terme i vila de Terrassa als segles XVI, XVII i XVIII, 1987, 188 pp.

25. DOMENECH, E. ; CORBELLA J. ; PARELLADA, D. (eds.). Bases històriques de la psiquiatria catalana, 1987, 401 pp.
26. VALLRIBERA i PUIG, Pere. L'obra mèdica catalana de dos Cirurgians del 1700. Anton DE BORJA i Carles PALLEJA, 1987, 130 pp.
27. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. VII, 1987. (*)
28. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència, vol. VIII, 1987. (**)
29. FRAGOSO, Juan. "Tratado de las Declaraciones que han de hacer los cirujanos acerca de muchas enfermedades y muchas maneras de muertes que suceden". Edición y estudio preliminar de J. Corbella, 1988.
30. LOPEZ GOMEZ, José Manuel. "Don Martín Vallejo Lobón. El médico y el hombre", 1988.
31. HUGUET RAMIA, Emili; CARRACEDO ALVAREZ, Angel; GENE BADIA, Manel. "Introducción a la investigación biológica de la paternidad", 1988.
32. HEXACLOROBENCENO, Primeras Jornadas Nacionales. Libro de resúmenes, 1988.
33. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència. vol. IX, 1988 (*).
34. Jornades d'Història de la Medicina d'Olot. Olot 1987. (separata de Gimbernat VIII).
35. ORFILA Núm. 1. I Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense. Alicante 1987. Libro de Actas.
36. ORFILA Núm. 2. II Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense. Barcelona, 8-9 abril, 1988. Libro de Actas.
37. GIMBERNAT. Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència. vol. X, 1988 (**)
38. CALBET i CAMARASA, J.M; VALLRIVERA i PUIG, P. Medicina i societat a l'Espluga de Francoli (Secos XVIII i XIX). GIMBERNAT vol XI, 1989 (*).
39. GIMBERNAT. Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència. Vol. XII, 1989 (**).
40. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència. Vol XIII, 1990 (*).
41. HEXACLOROBENZENO, Primeras Jornadas Nacionales. Libro de Actas. (1990).

32. HEXACLOROBENCENO, Primeras Jornadas Nacionales. Libro de resúmenes, 1988.
33. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència. vol. IX, 1988 (*).
34. Jornades d'Història de la Medicina d'Olot. Olot 1987. (separata de Gimbernats VIII).
35. ORFILA Núm. 1. I Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense. Alicante 1987. Libro de Actas.
36. ORFILA Núm. 2. II Jornadas Anuales de la Sociedad Española de Medicina Legal y Forense. Barcelona, 8-9 abril, 1988. Libro de Actas.
37. GIMBERNAT, Revista Catalana d'Història de la Medicina i de la Ciència. vol. X, 1988 (**).
38. CALBET i CAMARASA, J.M.; VALLRIBERA i PUIG, P., Medicina i Societat a l'Espluga de Francolí. (segles XVIII i XIX), GIMBERNAT XI. 1989 (*). 278pp.
39. HEXACLOROBENCENO, Primeras Jornadas Nacionales. Libro de Actas. 1990.