

## Trabajos

### Plaguicidas en leche materna y su potencial efecto disruptor endocrino en gestantes del cordón hortícola de Santa Fe (Argentina) (Informe Preliminar)

RECIBIDO: 02/07/2009

ACEPTADO: 01/10/2009

Trossero S.M.<sup>1</sup> • Trossero N. R.<sup>2</sup> • Scagnetti J.<sup>1</sup> • Portillo P.<sup>3</sup> • Kleinsorge E. C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Toxicología y Bioquímica Legal. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. UNL. Tel: 0342-4575215/16 int: 155. CP 3000, Santa Fe. Argentina.

<sup>2</sup> Med. Endocrinólogo pediatra. Clínica Infantil. Santa Fe. Argentina.

<sup>3</sup> Med. Ginecólogo-Obstetra. Hospital Protomédico. Santa Fe Argentina.

Email: sebatrossero@yahoo.com.ar

**RESUMEN:** La comunidad científica manifiesta una creciente preocupación sobre los efectos potenciales de la exposición a diversos compuestos químicos que actuarían como xenoestrógenos o Compuestos Disruptores Endocrinos (CDEs). Se estudió una población de mujeres embarazadas (n = 10) en un rango de edades de 17 a 31 años, residentes de una zona hortícola (período Octubre 2007 a Febrero 2008). Para la evaluación se obtuvieron muestras sanguíneas y de leche materna, utilizándose como marcadores de efectos los niveles hormonales de Tirotrófina plasmática, Tiroxina, Anticuerpos Anti-Fracción Microsomal, y como marcadores de exposición compuestos organoclorados y sus metabolitos.

En 6 muestras de leche materna se determinó la presencia de Heptaclor. Sin embargo no se comprobó la presencia de plaguicidas en sangre.

Las significativas asociaciones halladas entre los valores hormonales de TSH y T4 registrados y la presencia de Heptaclor en muestras de leche materna ( $P < 0,05$ ) promueven a continuar con este estudio.

**PALABRAS CLAVE:** disruptor endocrino, plaguicidas, eje tiroideo, leche materna.

**SUMMARY:** *Pesticides in breast milk and their potential endocrine disruptor effect on unborn children from a horticultural zone in Santa Fe (Argentina) (Preliminary Report)*

The scientific community says is a growing concern about the potential effects of exposure to various chemicals compounds that act as xenoestrógenos or endocrine disruptors compounds (EDCs). We studied a population of pregnant women (n=10) ranging in age from 17 to 31 years, all residing in a horticultural zone (period October 2007

to February 2008). For evaluating, were obtained blood samples and breast milk, and then used Thyrotropin hormone levels, thyroxine, Antibodies Anti-microsomal fraction as markers of effects and organochlorine compounds and their metabolites as markers of exposure. In 6 samples of breast milk was determined the presence of heptachlor. However

it wasn't found the presence of pesticides in blood samples.

The significant associations founding between the values of TSH and T4 hormone and the presence of heptachlor in milk samples recorded ( $P < 0.05$ ) must as to continue to promote this study.

**KEYWORDS:** endocrine disruptors, pesticides, thyroid axis, breast milk.

### Introducción

La exposición a diversas sustancias químicas introducidas en el medio ambiente por la actividad humana y la aparición de nuevos síndromes y enfermedades de etiología no bien dilucidada, ha sugerido una nueva hipótesis de interés clínico conocida como *disrupción endocrina*.

La comunidad científica manifiesta una creciente preocupación sobre los efectos potenciales de la exposición a diversos compuestos químicos que actuarían como xenoestrógenos o Compuestos Disruptores Endocrinos (CDEs), alterando el funcionamiento normal del sistema endocrino, aumentando la incidencia de trastornos testiculares, prostáticos, tiroideos, mamarios y de infertilidad, tanto en animales silvestres como en seres humanos (1). Se trata de un problema emergente de salud ambiental que pone en la mira los fundamentos de control y la regulación del uso de muchos compuestos químicos. La situación es más compleja aún si se piensa que hay alrededor de 100.000 sustancias a ser testeadas y que el número de ellas sigue creciendo.

Se ha propuesto una definición simple de compuestos disruptores endocrinos (CDEs) como "agente químico con el potencial de alterar la acción hormonal en el organismo" (2, 3). Esto implica que el agente exóge-

no interfiere en la síntesis, secreción, transporte, unión o eliminación de las hormonas naturales del organismo, responsables de mantener la homeostasis, reproducción, desarrollo y/o comportamiento. Para la categorización de las sustancias con probable acción disruptora endócrina se consideran los siguientes criterios: su persistencia en el ambiente, su volumen de producción y la exposición en humanos y especies silvestres, conjuntamente con la evidencia científica de disrupción endocrina (4).

La exposición a disruptores endocrinos en numerosas especies de vertebrados, se ha asociado a acciones anti-tiroideas, anti-estrogénicas y estrogénicas interfiriendo en el desarrollo y función normal de los órganos reproductivos (2).

Los efectos producidos por los CDEs dependen tanto de factores propios del agente químico como del organismo expuesto. Entre ellos: la dosis y tiempo de exposición, las características del xenobiótico, la persistencia y biomagnificación, y por otro lado, los factores genéticos, nutricionales, la edad y el sexo, entre otros, juegan roles importantes en los seres vivos expuestos a la injuria.

Sustancias como el DDT (dicloro-difenil-tricloetano), 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), PCBs (bifenilos policlorados), BPA (bifenol A); los alquifenoles-polietoxila-

tos (APE); las dioxinas (TCDD) y dibenzofurano (TCDF), son ejemplos de compuestos sintéticos considerados como CDEs (5, 6, 7, 8). También compuestos metálicos derivados del cadmio y el plomo entre otros, actúan como CDEs (9).

El acumulo de xenoestrógenos en el tejido adiposo, durante la vida de la madre, supone una importante vía de exposición del feto durante la gestación (10, 11) y también durante la lactancia materna, ya que la glándula mamaria es considerada un mecanismo de excreción de estos compuestos clorados (12, 13). Los neonatos lactantes presentan mayores niveles de compuestos organoclorados (14), y son las madres que registran menores niveles, aquellas que dieron el pecho, sugiriendo una importante vía de depuración de xenobióticos (15).

Durante el proceso de síntesis de la leche materna ciertos componentes contaminantes presentes en la sangre de la madre pueden pasar a través de las membranas y ser incorporados en la leche en concentraciones comparables a los niveles registrados en otros compartimentos grasos del organismo (16, 17).

Uno de los primeros trabajos que midieron organoclorados en leche materna fue realizado por Laug 1951 (18), este reportó que la leche de 32 mujeres de Washington DC, contenían DDT en concentraciones superiores a  $0,13 \mu\text{g/l}$ , atribuyendo este hecho a la ingesta de productos contaminados.

Es conveniente prestar atención a la exposición de grupos de individuos de mayor riesgo (10, 19, 20, 21, 22) como son el embrión, feto, la infancia y las mujeres embarazadas, especialmente debido al hecho de que la experiencia en modelos animales y en la fauna silvestre es lo suficientemente concluyente como para sugerir que el efec-

to disruptor es mucho más marcado si la exposición ha ocurrido en alguna de estas fases del desarrollo (23).

Distintas investigaciones han determinado que aquellos padres que trabajan en regiones donde se utilizan masivamente pesticidas tienen un elevado riesgo de que se produzca muerte fetal por diferentes anomalías congénitas. Este riesgo se ve aun aumentado cuando se produce la concepción en aquellos periodos de mayor utilización de pesticidas (24).

Numerosos estudios biológicos, epidemiológicos y toxicológicos del aparato reproductivo, enfatizan la importancia de la exposición parenteral, considerada una ventana crítica, sobre todo si se adiciona la exposición durante el periodo de organogénesis (25, 26).

Estudios realizados en las zonas de producción hortícola del Dpto. La Capital, Santa Fe (Argentina) demostraron que el manejo, uso y disposición de envases de pesticidas no es seguro y comprobaron daños genotóxicos y modificaciones en la actividad de enzimas afectadas por los pesticidas metilcarbámicos y organofosforados (27, 28).

El objetivo del presente trabajo consistió en detectar la presencia de organoclorados y sus metabolitos en muestras sanguíneas y de leche materna en una población de mujeres embarazadas que se hallan en riesgo de exposición a mezclas de plaguicidas en forma directa e indirecta. Por otro lado establecer la posible alteración del perfil hormonal tiroideo de estas mujeres expuestas.

Con este fin se evaluaron como marcadores de efectos los niveles hormonales de tirotrófina plasmática (TSH), Tiroxina (T4) y Anticuerpos Anti-Fracción Microsomal; como marcadores de exposición se realizó la dosimetría de compuestos organoclorados y sus metabolitos.

### **Materiales y métodos**

Se reclutó un grupo de gestantes que dieron su consentimiento informado para ser seguidas hasta el primer mes de lactancia, donando una muestra de sangre y leche materna. Los criterios de inclusión fueron: residir en la zona frutihortícola en estudio al menos por un año, tener una edad entre 17 y 34 años (período de menor incidencia de patologías fetales y complicaciones obstétricas, 29), que accedan a firmar el consentimiento informado, sin antecedentes de enfermedades congénitas, primíparas o múltiparas.

Se excluyeron aquellas mujeres mayores de 35 años, aquellas que presentaron enfermedades crónicas, en particular hepáticas y renales y aquellas que al momento de la extracción estaban bajo un régimen de tratamiento farmacológico determinado.

Al tomar la muestra se realizó una evaluación de las características demográficas de la población (edad, lugar y tiempo de residencia en la zona, nivel de instrucción).

El suero separado de las muestras de sangre fue conservado a -70 °C hasta el momento de su procesamiento analítico. Para la cuantificación de los niveles hormonales se empleó Radioinmunoanálisis (IRMA) para TSH (DPC®), RIA para T4, (DPC®). La detección de anticuerpos Anti-Microsomal se realizó mediante Microaglutinación de partículas (SERODIA®).

Para la determinación por cromatografía gaseosa de compuestos organoclorados en muestras suero y leche materna, se realizó una extracción previa con columnas rellenas con Fluorisil (Supelco). El solvente eluido se evaporó y el residuo fue retomado con Isooctano (SINTORGAN, CP). Se utilizó un cromatógrafo Agilent 6890 Versión N.05.05 con una columna capilar SLB-5ms (Supelco) de 20 m, con programa de temperatura partiendo de 100 °C hasta 325 °C con un detector

ECD a 325 °C. El límite de detección para las condiciones preestablecidas es de 1 µg/L.

Los compuestos estudiados fueron: Aldrin; Alpha-BHC; Delta-BHC; Dieldrin; Endosulfan I (Alpha); Endosulfan II (Beta); Endosulfan Sulfato; Endrin; Endrin Aldehído; Gamma-BHC; Heptaclor; Heptaclor Epóxido Isómero B; 4,4`-DDD; 4,4´-DDE; 4,4´-DDT.

El dosaje de organoclorados totales en las muestras de leche materna se realizó con idéntico procedimiento y equipamiento que para suero.

Para el tratamiento estadístico se utilizó el programa SPSS 11.5 for Windows.

Se analizó la distribución de los valores a través del test de Kolmogorov-Smirnov. Se hallaron diferencias significativas respecto de la distribución normal de datos, por ello se utilizaron test no-paramétricos. El análisis de variancia se realizó a través de Mann-Witney, para dos muestras independientes.

### **Resultados**

Durante el período Octubre 2007 a Febrero 2008 se procedió al estudio de mujeres embarazadas (n = 13) pero solo 10 culminaron el estudio. El rango de edades fue de 17 a 31 años.

Puesto que no todos los pesticidas pueden ser monitoreados debido al alto costo de los métodos de analíticos de valoración de multi-residuos en muestras biológicas, se centró la atención en la investigación de organoclorados, reconocidos CDEs.

En las muestras de sangre no se detectó, dentro de los límites de detección de la técnica empleada, la presencia de compuestos organoclorados.

En 6 de las muestras de leche materna se registró la presencia de heptaclor en distintas concentraciones (tabla 1).

Los principales datos epidemiológicos se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Datos epidemiológicos, de laboratorio y variables toxicológicas en población de 10 mujeres en periodo de lactancia. FM (fracción microsomal); n/d (no detectado); (TSH v.r adulto: 0.5-5  $\mu$ U/ml) (T4 v.r adulto: 4.5-12.5  $\mu$ g/dl).

Nº	Datos epidemiológicos			Variables de laboratorio			Variables toxicológicas	
	Edad años	Semana del embarazo extracción muestras	Tiempo de residencia	TSH ( $\mu$ U/ml)	T4 ( $\mu$ g/dl)	Anti FM	O. Clorados en sangre	O. Clorados en Leche
1	28	26	12 años	4,15	6,6	negativo	n/d	n/d
2	31	12	3 años	0,32	13,2	negativo	n/d	2 $\mu$ g/L
4	18	22	10 años	0,84	12,1	negativo	n/d	4 $\mu$ g/L
6	26	19	12 años	1,51	9,9	negativo	n/d	3 $\mu$ g/L
7	29	26	15 años	2,21	7,9	negativo	n/d	n/d
10	24	27	4 años	2,05	7,7	negativo	n/d	3 $\mu$ g/L
11	23	30	2 años	3,18	6,2	negativo	n/d	n/d
12	21	34	3 años	2,32	7,3	negativo	n/d	n/d
14	20	30	20 años	0,65	14,6	negativo	n/d	2 $\mu$ g/L
22	17	28	2 años	0,71	11,6	100	n/d	2 $\mu$ g/L

**Tabla 2.** Promedios y desvíos estándar de los datos demográficos, laboratorio, y estudio estadístico.

Datos		Grupos		Mann Whitney Test
		OCI detectable en leche materna	OCI no detectable en leche materna	
Datos demográficos	Edad	22,66 $\pm$ 5,35	25,25 $\pm$ 3,86	P > 0,05
	T. residencia	8,5 $\pm$ 6,92	8,00 $\pm$ 6,48	P > 0,05
Datos laboratorio	T4	11,52 $\pm$ 2,44	7,00 $\pm$ 0,75	P = 0,019
	TSH	1,01 $\pm$ 0,69	2,96 $\pm$ 0,90	P = 0,010

Una de las participantes (Nº2) registró valores de TSH (0,32  $\mu$ U/ml) y T4 (13,2  $\mu$ g/dl) por fuera del rango de referencia.

Al analizar los resultados en forma conjunta se observó que los estudios estadísticos realizados arrojaron valores significativamente más altos de T4 y valores

significativamente menores de TSH en el grupo de mujeres con heptaclor en la leche materna en comparación con el grupo sin la presencia del organoclorado en la muestra de leche (tabla 2).

En una de las madres se comprobó la presencia de anticuerpos tiroideos (tabla 1, Nº 22).

## Discusion

La utilización de plaguicidas organoclorados, reconocidos CDEs, prohibidos o limitados en sus usos agropecuarios, representa un doble riesgo, ya que afectan tanto a quienes lo aplican como a su entorno, y por otro lado al consumidor final debido a su presencia y/o magnificación en los alimentos.

Heptaclor es un pesticida organoclorado utilizado para controlar plagas en granos y semillas. El epóxido de heptaclor, principal metabolito del Heptaclor es extremadamente persistente en lípidos, registrándose su presencia hasta 14-16 años después de su aplicación. Este organoclorado ha sido prohibido en más de 60 países (30, 31). Sin embargo algunos continúan permitiendo su uso para el control de termitas y en la agricultura (32). En Argentina su uso esta prohibido Ley 18.073 (20-01-69).

Los efectos de los contaminantes, entre ellos los plaguicidas, sobre el eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo en humanos adultos pueden ser considerados menos significativos en comparación a los encontrados en fetos y neonatos, ya que el eje tiroideo corrige la alteración mediante un efectivo sistema de feed back (retroalimentación), restableciendo de esta manera el balance hormonal normal. En contraposición a esto, la exposición fetal durante el embarazo es crucial, ya que la función tiroidea fetal hasta aproximadamente el segundo trimestre depende en gran medida de las concentraciones tiroideas maternas, determinando efectos mayores en comparación con los adultos (33).

El hecho de no haber detectado la presencia de plaguicidas organoclorados en las muestras de sangre, mediante la técnica empleada (sensibilidad del método  $> 1 \mu\text{g/l}$ ), no descarta la presencia de los mis-

mos en esta población. Ello podría deberse a la alta lipofilidad de los organoclorados y a la escasa proporción de lípidos, por lo general, presentes en muestras sanguíneas de mujeres en período de lactancia (34).

Los disruptores endocrinos tienen la particularidad de producir efectos a niveles extremadamente bajos, en el límite de la capacidad de análisis. Los límites de exposición a agentes químicos se miden en ppm (partes por millón) y sin embargo las hormonas y los disruptores endocrinos pueden ocasionar efectos a dosis un millón de veces inferiores, de ppb (partes por billón) (2).

A pesar de que los datos de TSH y T4 obtenidos no salen de los rangos referencia utilizados, los estudios estadísticos realizados arrojaron valores significativamente mas altos de T4 y valores significativamente menores de TSH en el grupo de mujeres que presentaron heptaclor en la leche materna en comparación al grupo sin la presencia del organoclorados en la muestra de leche, este hecho pone en evidencia una posible acción disruptora que puede estar relacionada a la presencia de este agente exógeno (heptaclor) encontrado en la leche materna, coincidiendo con los datos obtenidos por Damstra (2).

La Fracción antimicrosomal se encontró presente en una de las donantes, indicando ello la existencia de autoanticuerpos tiroideos. Esto podría asociarse a una tiroiditis de Hashimoto, y como sucede en la mayor parte de los trastornos autoinmunitarios, la susceptibilidad a este tipo de hipotiroidismo depende de una combinación de factores genéticos y ambientales (por ej.: potencial exposición a CDEs). Es importante detenerse en este aspecto ya que al ser la incidencia de tiroiditis de Hashimoto de 4 en 1000 (35) los valores registrados hasta el momento 1 en 10 mujeres, podrían in-

dicar que la zona objeto de estudio estaría sujeta a posibles noxas (plaguicidas CDEs) las cuales la convierten en un área de mayor susceptibilidad a la aparición de ciertas patologías en las cuales el componente medio ambiental jugaría un rol importante en su génesis.

Los resultados hallados en esta muestra de mujeres del cordón agrícola obligan a ampliar el muestreo biológico.

Se precederá a realizar un seguimiento a futuro de los hijos de estas madres con el objeto de poder detectar posibles alteraciones en la salud de los mismos (36) las cuales puedan ser atribuibles a este hecho particular y sobre todo si no pudiese adjudicarse ningún componente etiológico que pueda explicar la aparición de dicha alteración.

## Bibliografía

- Melnick R., Lucier G., Wolfe M., Hall R., Stancel G., Prins G. 2002. Summary of the National Toxicology Program's Report of the Endocrine Disruptors Low-Dose Peer Review. *Environ Health Perspect* 110 (4): 427-31.
- Damstra T., Barlow S., Bergman A., Kavlock R., Van Der Kraak G. 2002. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. International Programme on Chemical Safety. <http://ehp.niehs.nih.gov/who/>.
- Organización Mundial de la Salud. 1992. Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- European Commission DG Env. 2000. Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption - final report, BKH Engineers, Delft, Netherlands.
- Bergeron J.M., Crews D., McLachlan J.A. 1994. PCBs as environmental estrogens: turtle sex determination as a biomarker of environmental contamination. *Environ Health Perspect*. 102: 780-781.
- Collins-Burow B.M., Burow M.E., Duong B.N., McLachlan J.A. 2000. Estrogenic and antiestrogenic activities of flavonoids phytochemicals through estrogen receptor binding-dependent and independent mechanisms. *Nutr. Cancer* 38: 229-244.
- Figa-Talamanca I., Traiana M.E., Urbani E. 2001. Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. *Occup. Med.* 51. N° 3: 174-188.
- Markey C.M., Luque E.H., Muñoz de Toro M., Sonnenschein C., Soto A.M. 2001. In utero exposure to bisphenol A alters the development and tissue organization of the mouse mammary gland. *Biol Reprod*; 65: 1215-23.
- Barros de Castro C.M. 2002. Perturbadores endocrinos Ambientais: Uma Questão a ser Discutida. *Rev.: Engenharia sanitaria e ambiental*. 7- N° 1- Jan-Mar e N° 2- Abr-jun.
- Olea N., Olea-Serrano F., Lardelli-Claret P., Rivas A., Barba-Navarro A. 1999. Inadvertent exposure to xenoestrogens in children. *Toxicol. Ind. Health* 15: 151-58.
- Botella B., Crespo J., Rivas A., Cerrillo I., Olea-Serrano M.F., Olea N. 2004. Exposure of women to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environ. Res.* 96 (1):34-40.
- Cok I., Donmez M.K., Karakaya A.E. 2004. Levels and trends of chlorinated pesticides in human breast milk from Ankara residents: comparison of concentrations in 1984 and 2002. *Bull Environ Contam Toxicol.* 72 (3):522-9.
- Kunisue T., Someya M., Monirith I., Watanabe M., Tana T.S., Tanabe S. 2004. Occurrence of PCBs, organochlorine insecticides, tris(4-chlorophenyl)methane, and tris(4-chlorophenyl)methanol in human breast milk collected from Cambodia. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 55 (3):215-21.
- Longnecker M.P., Rogan W.J. 2001. Persistent organic pollutants in children. *Pediatr. Res.*

50:322-23.

15. Lopez-Carrillo L., Torres-Sanchez L., Moline J., Ireland K., Wolf M.S. 2001. Breast-feeding and serum p,p'T levels among Mexican women of childbearing age: a pilot study. *Environ. Res.* 87:131-35

16. Jenness R. 1979. The composition of human milk. *Semin Perinatol* 3: 225-239.

17. Skaare J.U., Tuveng J.M., Sande H.A. 1988. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in maternal adipose tissue, blood, milk and cord blood from mothers and their infants living in Norway. *Arch environ Contam Toxicol* 17:55-63.

18. Laug E.P., Kunze F.M., Prickett C.S. 1951. Occurrence of DDT in human fat and milk. *Arch Ind Hyg* 3:245-246.

19. Porta M. 2001. Role of organochlorine compounds in the etiology of pancreatic cancer: a proposal to develop methodological standards. *Epidemiology* 12: 272-276.

20. Porta M., Kogevinas M., Zumeta E., Sunyer J., Ribas-Fito N., Ruiz L., Jaroid M., Vioque J., Alguacil J., Martin P., Malats N., Ayude D. 2002. Concentration of persistent toxic compounds in the Spanish population: a puzzle without pieces and the protection of public health. *Gac.Sanit.* 6: 257-266.

21. Fisher J. S. 2004. Environmental anti-androgens and male reproductive health: focus on phthalates and testicular dysgenesis syndrome. *Reproduction* 127:305-315.

22. Fisher J.S., Mcpherson S., Marchetti N., Sharpe R. M. 2003. Human testicular dysgenesis syndrome: a possible model based on in utero exposure of the rat to dibutyl phthalate. *Hum Reprod.* 7:1383-94.

23. Varayoud J., Monje L, Bernhardt T., Muñoz-de-Toro M., Luque E.H., Ramos J.G. 2008. Endosulfan modulates estrogen-dependent genes like a non-uterotrophic dose of 17beta-estradiol. *Reprod. Toxicol.* Published on line ahead of print.

24. Regidor E., Ronda E., García A.M., Domínguez V. 2004. Paternal exposure to agricultural pesticides and cause specific fetal death. *Occup Environ Med.* 61:334-339.

25. Chapin R.E., Robbins W.A., Schieve L.A., Sweeney A.M., Tabacova S.A., Tomashek K.M. 2004. Off to a good start: the influence of pre- and periconceptional exposures, parenteral fertility, and nutrition on children's health. *Environ Health and Perspect* 112: 69-78.

26. Selevan S.G., Kimmel C.A., Mendola P. 2000. Identifying critical windows of exposure for children's health. *Environ Health Perspect* 108 (3): 451-455.

27. Kleinsorge E.C., Solterman G., Mastandrea C., Ahumada L. 2003. Niveles de colinesterasa plasmática y eritrocitaria en población rural (Santa Fe, Argentina). *Comunicación al XIII Cong. Toxicología.*

28. Lenardon A.L. y Rodriguez A,R. 2007. La problemática de los agroquímicos y sus envases, su incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta y el ambiente. Estudio colaborativo multicentrico. Ministerio de Salud. Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable 1º Edicion. (Santa Fe) I. 247-266.

29. Donoso E., Becker J., Villarroel I. 2003. Natalidad y Riesgo reproductivo en adolescentes de Chile, 1990-1999. *Rev. Panam. Salud Pública/Pan American J Public Health* 14(1).

30. PANNA. 1995. Demise of the Dirty Dozen Chart. San Francisco, CA: Pesticide Action Network North America.

31. WHO. 1988. Heptachlor Health and Safety Guide. Health and Safety Guide 14. Geneva: World Health Organization.

32. Noroña F. 1998. Persistent organic pollutants pervade Asia. *Environment News Service.* Available:<http://ens.lycos.com/ens/nov98/1998L-11-23-03.html>

33. Brown Valerie. 2003. Disrupting a Delicate Balance. *Environ Health Perspect.* 111. (12):642-649.

34. Needman L.L and Richard Y Wang. 2002. Analytuc Considerations for Measuring Environmental Chemicals in Breast milk. *Environ Health Perspect* 110:A317-A324.



35. Jameson L.J. and Weetman A.P. 2008. Trastornos de la glándula Tiroides. Harrison Principios de Medicina Interna. 17 Edición. 2224-2247.

36. Roberts E.M., English P.B., Grether J.K., Windham G.C., Somberg L. and Wolff C. 2007. Maternal residence near agricultural pesticide applications and autism spectrum disorders among children in the California Central Valley. Environ. Health Perspect. 115(10): 1482–1489.0

### **Agradecimientos**

Expresamos nuestro agradecimiento a Carlos Chichizola, Dir. Alkemy Center Lab y al Bioq. Carlos Mastandrea por el procesamiento analítico de las muestras.