

UNIVERSIDAD DE GRANADA



**ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A
XENOESTRÓGENOS
EN EL CÁNCER DE MAMA Y SEGUIMIENTO
DE LAS PACIENTES TRAS EL
TRATAMIENTO INSTAURADO**

**Memoria que presenta para aspirar al grado de Doctor en
Medicina y Cirugía FRANCISCO JOSÉ HUERTAS PEÑA**



UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y SUS
ESPECIALIDADES
FACULTAD DE MEDICINA

D. JOSÉ MARÍA GARCÍA GIL, Catedrático de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Departamento de Cirugía y sus Especialidades de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada y Jefe del Servicio B de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Clínico San Cecilio de Granada.

CERTIFICA: Que **D. FRANCISCO JOSÉ HUERTAS PEÑA**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su Memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOESTRÓGENOS EN CÁNCER DE MAMA Y SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES TRAS EL TRATAMIENTO INSTAURADO**, bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y para que conste y surta efectos donde proceda, expido el presente certificado

Granada a cuatro de Enero de 2005

Fdo. Prof. Dr. José María García Gil



**UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y SUS
ESPECIALIDADES
FACULTAD DE MEDICINA**

D. PABLO TORNÉ POYATOS, Profesor Titular del Departamento de Cirugía y sus Especialidades de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada y Facultativo Especialista de Área del Servicio B de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Clínico San Cecilio de Granada.

CERTIFICA: Que **D. FRANCISCO JOSÉ HUERTAS PEÑA**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su Memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOESTRÓGENOS EN CÁNCER DE MAMA Y SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES TRAS EL TRATAMIENTO INSTAURADO**, bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y para que conste y surta efectos donde proceda, expido el presente certificado.

Granada a cuatro de Enero de 2005

Fdo. Prof. Dr. Pablo Torné Poyatos



**UNIVERSIDAD DE GRANADA
DEPARTAMENTO DE RADIOLOGÍA Y
MEDICINA FÍSICA
FACULTAD DE MEDICINA**

D. NICOLAS OLEA SERRANO, Catedrático de Radiología y Medicina Física del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Universidad de Granada.

CERTIFICA: Que **D. FRANCISCO JOSÉ HUERTAS PEÑA**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su Memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOESTRÓGENOS EN CÁNCER DE MAMA Y SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES TRAS EL TRATAMIENTO INSTAURADO**, bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y para que conste y surta efectos donde proceda, expido el presente certificado

Granada a cuatro de Enero de 2005

Fdo. Prof. Dr. Nicolás Olea Serrano

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA Y SUS ESPECIALIDADES
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

D. PABLO TORNÉ POYATOS, Director del Departamento de CIRUGÍA Y SUS
ESPECIALIDADES

CERTIFICA: Que el presente trabajo de tesis ha sido realizado por el licenciado en Medicina y Cirugía, D. FRANCISCO JOSÉ HUERTAS PEÑA, en el Departamento de Cirugía y sus Especialidades de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada. Y para que conste y surta efectos donde proceda, firmo el presente certificado.

Granada a cuatro de Enero de 2005

Fdo. Prof. Dr. Pablo Torné Poyatos

La memoria de Tesis Doctoral que lleva por título ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A XENOESTRÓGENOS EN CÁNCER DE MAMA Y SEGUIMIENTO DE LAS PACIENTES TRAS EL TRATAMIENTO INSTAURADO, ha sido presentada por el Licenciado Francisco José Huertas Peña para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, habiendo sido dirigida por D. José María García Gil, Catedrático de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Departamento de Cirugía y sus Especialidades de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, por D. Pablo Torné Poyatos, profesor titular del Departamento de Cirugía y sus Especialidades de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada y por D. Nicolás Olea Serrano, Catedrático del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

Fdo. Francisco José Huertas Peña

El trabajo experimental de esta Tesis Doctoral ha sido realizado en parte gracias a los Proyectos nº 00/543 y 02/1314 del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS) que llevan por título “DETERMINACIÓN DE LA CARGA ESTROGÉNICA EN CÁNCER DE MAMA MEDIANTE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS E-SCREEN MODIFICADO Y MVLN-LUCIFERASA. IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LOS XENOBIÓTICOS ESTROGÉNICOS CONTENIDOS EN SANGRE Y TEJIDO ADIPOSO” y “SIGNIFICADO BIOLÓGICO Y ANÁLISIS DE LA CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA EN PATOLOGIA DEPENDIENTE DE LAS HORMONAS”, respectivamente; del Proyecto nº 97/231 de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía, titulado “XENOBIÓTICOS ESTROGÉNICOS Y CÁNCER DE MAMA”; del Proyecto 98-01 de la Fundación San Francisco Javier y Santa Cándida titulado “XENOESTRÓGENOS ESTROGÉNICOS Y CÁNCER DE MAMA: ESTIMACION DE LA CARGA ESTROGÉNICA Y CONTENIDO EN XENOBIÓTICOS” y por último del Proyecto Europeo del V Programa Marco QLRT-1999-01422 titulado “INCREASING INCIDENCE OF HUMAN MALE REPRODUCTIVE HEALTH DISORDERS IN REALTION TO ENVIRONMENTAL EFFECTS ON GROWTH-AND SEX STERID-INDUCED ALTERATIONS IN PROGRAMMED DEVELOPMENT”.

AGRADECIMIENTOS

La verdad es que cuando comencé este proyecto de la mano de Pablo y Nicolás nunca pensé que llegaría el momento de expresar mi agradecimiento a todas las personas que hubieran participado y colaborado en el mismo, porque esto significaría que me encontraría escribiendo unas palabras que darían paso a la “tesis doctoral”.

Ha sido un largo camino lleno de malos ratos y preocupaciones pero también de buenos momentos y satisfacciones. De todos estos destacaría el contacto con las pacientes que han participado y que se han volcado en el proyecto desde el primer momento y en un cien por cien. Creo que el principal motivo que me impulsó a embarcarme en este trabajo han sido ellas, ya que a pesar de lo duro que es recibir la noticia de haber sido diagnosticada de un cáncer de mama y todo lo que esto conlleva: recuperación de una cirugía, en ocasiones mutilante, no “sucumbir” al duro tratamiento antineoplásico sistémico, etc., todas aceptaron de buen grado y sin titubeos, participar en el proyecto. No es posible comparar el peor momento que yo haya podido pasar en la elaboración de esta memoria con el mejor momento que hayan atravesado ellas durante su periodo de tratamiento.

Quiero expresar en primer lugar mi agradecimiento al **profesor García Gil**, que ha sido mucho más que mi jefe y co-director de esta memoria, no solo su apoyo y colaboración en todo momento, sino por algo más, que él sabe y que no podría expresar en estas líneas.

A **Pablo**, al que espero no haber defraudado. Desearía que las puertas que me abrió en su momento no se encuentren cerradas o que al menos permanezcan entreabiertas. Para mi ha sido más que uno de mis maestros, ha sido y sigue siendo un amigo. Espero que el me siga considerando su amigo.

A **Nicolás**, porque sin él este trabajo no hubiera visto la luz. Siempre ha encontrado un hueco en su apretada agenda para atender todas las dudas, y puedo asegurar que han sido muchas, que se han planteado en el desarrollo del trabajo.

Al **profesor Luna**, porque sin ayuda y colaboración no hubiéramos podido dar interpretación a los resultados obtenidos.

A **Patricia**, por su tenacidad y constancia, ya que estoy seguro de que sin ella no estaría escribiendo en estos momentos estas líneas.

Y por último, expresar mi agradecimiento por su colaboración a todo el personal de enfermería del Servicio B de Cirugía General del Hospital Clínico de Granada.

Se agradece, igualmente, la ayuda recibida de la Fundación Hospital Clínico de Granada.

A Isa
A mis padres
A mis hermanos y sobrinos

ÍNDICE

Índice

	Página
1. INTRODUCCIÓN	
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA	1
1.2. ETIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA	6
1.2.1. Estrógenos y riesgo de cáncer de mama	11
1.2.1.1. Homeostasis de los estrógenos	11
1.3. DISRUPTORES ENDOCRINOS Y XENOESTRÓGENOS	19
1.3.1. Exposición a disruptores endocrinos	23
1.3.1.1. Carga Estrogénica Total Efectiva (TEXB)	24
1.3.1.2. Ensayos in vitro de estrogenicidad	25
1.3.1.3. Biomarcadores de exposición y efecto	27
1.3.2. Plaguicidas organoclorados	29
1.3.2.1. Hexaclorobenceno	30
1.3.2.2. DDT y metabolitos	31
1.3.2.3. Dieldrín, Aldrín y Endrín	34
1.3.2.4. Metoxicloro	34
1.3.2.5. Endosulfán	35
1.4. DIFERENCIA ENTRE NIVELES DE PESTICIDAS EN TEJIDO ADIPOSO MAMARIO Y TEJIDO ADIPOSO ABDOMINAL	39

2.	OBJETIVOS	41
3.	MATERIAL Y METODOS	
3.1.	POBLACIÓN DE ESTUDIO	43
3.1.1.	Información y consentimiento de las pacientes	44
3.1.2.	Información recogida a través de la encuesta y de la historia clínica	44
3.2.	METODOLOGÍA QUÍMICO-ANALÍTICA Y BIOLÓGICA	
3.2.1.	Obtención de las muestras biológicas	48
3.2.2.	Determinación y cuantificación de los xenoestrógenos	49
3.2.2.1.	Equipo	49
3.2.2.2.	Reactivos y compuestos químicos	50
3.2.3.	Métodos para el análisis químico	51
3.2.3.1.	Extracción y purificación de los xenoestrógenos de las muestras de tejido adiposo	51
3.2.3.2.	Extracción y purificación de los xenoestrógenos de las muestras de suero	52
3.2.3.3.	Cromatografía líquida de alta resolución preparativa (HPLC)	53
3.2.3.4.	Separación HPLC de los xenoestrógenos en tres fracciones	54
3.2.3.5.	Identificación y cuantificación de los compuestos organoclorados por cromatografía de gases	54
3.2.3.6.	Confirmación por cromatografía de gases/espectrómetro de masas (GC/MS)	55
3.2.3.7.	Determinación de lípidos totales	55
3.2.4.	Bioensayo para determinar la estrogenicidad	56
3.2.4.1.	Material y reactivos	56
3.2.4.2.	Líneas celulares	56
3.2.4.3.	Experimentos de proliferación celular: Test E-Screen	57
3.2.4.4.	Dosis-respuesta de estradiol	58
3.2.4.5.	Evaluación de la estrogenicidad de los extractos de tejido adiposo: fracciones α y β	58
3.3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EPIDEMIOLÓGICO	
3.3.1.	Selección de las variables recogidas de la encuesta epidemiológica y de la historia clínica	60
3.3.2.	Selección de las variables para el análisis químico en suero y tejido adiposo	63

3.3.3.	Análisis de los datos	64
3.3.3.1.	Estudio descriptivo	64
3.3.3.2.	Análisis bivariante	66
3.3.3.3.	Análisis multivariante	67
3.4.	CLASIFICACIÓN TUMORAL: TNM Y ESTADIO	68
4.	RESULTADOS	
4.1.	ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	71
4.1.1.	Características sociodemográficas de la población de estudio	71
4.1.1.1.	Edad	71
4.1.1.2.	Peso	72
4.1.1.3.	Talla	73
4.1.1.4.	Resultados del índice de masa corporal (IMC)	73
4.1.1.5.	Nivel educativo	75
4.1.1.6.	Hábito tabáquico	76
4.1.1.7.	Relación con la agricultura	76
4.1.1.8.	Uso de insecticidas	77
4.1.1.9.	Ruralidad	78
4.1.2.	Antecedentes de vida reproductiva de la población de estudio	79
4.1.2.1.	Eventos relacionados con la fertilidad	79
4.1.2.2.	Lactancia	82
4.1.2.3.	Tratamiento hormonal	83
4.1.3.	Antecedentes de patología mamaria personal o familiar	84
4.1.3.1.	Antecedentes personales de lesiones benignas de mama	84
4.1.3.2.	Antecedentes personales de cáncer de mama	85
4.1.3.3.	Antecedentes familiares de cáncer de mama	85
4.1.4.	Clasificación tumoral TNM	87
4.1.5.	TRATAMIENTO	88
4.1.5.1.	Tratamiento quirúrgico	88
4.1.5.2.	Quimioterapia antineoplásica	90
4.1.5.3.	Radioterapia postoperatoria	93

4.1.5.4.	Hormonoterapia complementaria	94
4.1.6.	FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS CON VALOR PRONÓSTICO	95
4.1.6.1.	Receptores hormonales	95
4.1.6.2.	Expresión de oncogenes	96
4.1.6.3.	Marcadores de proliferación tumoral	97
4.1.6.4.	Proteínas reguladoras del ciclo celular y la apoptosis	98
4.1.6.5.	Marcadores tumorales	99
4.1.6.6.	Colesterol y triglicéridos en suero de la población de estudio	101
4.1.7.	RECIDIVA Y METÁSTASIS	102
4.2.	EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCLORADOS Y DETERMINACIÓN DE LA CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA (TEXB)	103
4.2.1.	Determinación de pesticidas organoclorados en la población de estudio	103
4.2.1.1.	Frecuencia de presentación y valores medios de la concentración de pesticidas organoclorados en sangre en el momento de la intervención quirúrgica	103
4.2.1.2.	Frecuencia de presentación y valores medios de la concentración de pesticidas organoclorados en tejido adiposo mamario en el momento de la intervención quirúrgica	111
4.2.1.3.	Frecuencia de presentación y valores medios de la concentración de pesticidas organoclorados en sangre a los 3 meses de la intervención quirúrgica	115
4.2.1.4.	Determinación de pesticidas organoclorados en el tejido adiposo abdominal a los 3 meses de iniciado el estudio	122
4.2.2.	Determinación de la carga estrogénica total efectiva (TEXB)	126
4.3.	ESTUDIO ESTADÍSTICO BIVARIANTE DE LA EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCLORADOS Y LAS VARIABLES DE ESTUDIO EN EL MOMENTO DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA	130
4.3.1.	Asociación entre los distintos pesticidas organoclorados	130
4.3.2.	Asociación entre la concentración de pesticidas organoclorados sangre obtenida en la intervención quirúrgica y las distintas variables	134

4.3.3.	Asociación entre la concentración de pesticidas organoclorados en tejido adiposo mamario obtenido en la intervención quirúrgica y las distintas variables	168
4.3.4.	Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β estimada en el tejido adiposo mamario en la intervención quirúrgica y las distintas variables	188
4.4.	ESTUDIO ESTADÍSTICO BIVARIANTE DE LA EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS EN EL CURSO DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD (3 MESES) Y LAS VARIABLES DE ESTUDIO SELECCIONADAS	198
4.4.1.	Concentración de pesticidas organoclorados en sangre y tejido adiposo abdominal a los tres meses de la intervención quirúrgica	199
4.4.2.	Relación entre las concentraciones de pesticidas organoclorados y la carga estrogénica estimadas en el momento de la intervención quirúrgica y a los tres meses de seguimiento	203
4.4.3.1.	Relación entre las diferencias estimadas para la exposición de pesticidas y carga estrogénica y las variables de estudio	209
4.4.3.2.	Asociación entre la diferencia de los niveles de pesticidas organoclorados en tejido adiposo abdominal (3 meses de seguimiento) y niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario (inicio del estudio) y las distintas variables	233
4.4.3.3.	Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β (TEXB) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y las variables de interés	250
4.5.	ANÁLISIS MULTIVARIANTE	257
5.	DISCUSIÓN	281
6.	CONCLUSIONES	304
7.	BIBLIOGRAFÍA	306

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama -según recoge el Informe Sobre la Salud de los Españoles de 2003- es, en España, como en la mayoría de los países desarrollados, el más frecuente en la mujer y la primera causa de muerte por cáncer entre la población femenina (López-Abente et al., 2003). En términos de incidencia, el cáncer de mama se sitúa el primero en la lista de los tumores malignos, no sólo en los países industrializados sino también en los países en vías de desarrollo (Sasco, 2003)

Una estimación reciente apunta que en el año 2000 se diagnosticaron en todo el mundo más de diez millones de nuevos casos de cáncer y aproximadamente seis millones de muertes debidas al mismo. La neoplasia maligna de mama representa 1 de cada 10 cánceres y es el cáncer más frecuente en la mujer. Por este motivo es considerado por algunos autores como una epidemia (10% de todos los cánceres en el mundo) (King et al., 1996; Sasco, 2003)

Las tasas de incidencia más altas corresponden a Norteamérica, y las más bajas a los países de África y Asia. Europa se encuentra en situación intermedia. Aproximadamente un 5% de las mujeres desarrollará un cáncer de mama antes de cumplir los 75 años en España. La incidencia de la enfermedad se ha incrementado de forma importante en las últimas décadas, de manera que el riesgo de desarrollarlo a lo largo de la vida es de un 12,2% (una de cada ocho mujeres). Por otro lado, las tasas de mortalidad por esta neoplasia ajustadas por edad, se han mantenido constantes. El riesgo de muerte por cáncer de mama a lo largo de la vida es de un 3,6% (una de cada 282 mujeres) (Hankey et al., 1993; Parker et al., 1996; Smith et al., 1996)

Se ha observado un claro incremento en el número global de casos: de 572.000 nuevos casos en 1980 a 1.050.000 en el año 2000. Esto se corresponde no sólo con un modesto aumento de la incidencia en regiones con una larga historia de cáncer de mama, sino también con una marcada subida en regiones con un índice bajo de cáncer. Las razones de este incremento son generalmente explicadas por diversos factores medioambientales (Sasco, 2003)

Entre los países de la Unión Europea, España muestra una de las tasas más bajas de mortalidad por este tipo de cáncer y Castilla La Mancha, en el

contexto nacional, es una de las comunidades autónomas con menor mortalidad por esta causa. Representa cerca del 25 % de las muertes no accidentales de mujeres con edades comprendidas entre los 35 y 54 años.

La relativa constancia de la mortalidad, a pesar del aumento de la incidencia, se debe a la mejora en los programas de detección precoz y en el tratamiento de las enfermas. Se estima hoy en día que alrededor de la mitad de las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama, vivirán el resto de su vida sin recurrencias y que una tercera parte morirá a causa de la enfermedad.

Anualmente en nuestro país se diagnostican unos 16.000 casos al año y se produce la muerte de casi 6.000 mujeres. En España, la tasa de incidencia ajustada por edad en 1998 era de 67 casos por 100.000 mujeres, la menor de la UE y, al igual que en otros países occidentales, ha sufrido un considerable aumento, más marcado entre las décadas del 70 al 90 (López-Abente et al., 2000; Lacey et al., 2002). Según las últimas estimaciones de la Internacional Agency for Research on Cancer (IARC), la tasa de incidencia en España en el año 2000 fue de 73,7 casos por 100.000 mujeres (IARC, 2000). Se calcula que, actualmente en España existirían 67.600 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama en los últimos 5 años.

Los programas de detección precoz junto con los avances diagnósticos y terapéuticos se han traducido en un incremento de la supervivencia que se sitúa por encima del 70% a los cinco años del diagnóstico. Por ello, la mortalidad ha perdido validez a la hora de estudiar la frecuencia de aparición de estos tumores, aunque sigue siendo el único indicador disponible para ver la variabilidad geográfica dentro y fuera de nuestro país. En el ámbito internacional, las grandes diferencias observadas hace medio siglo en la mortalidad por este tumor tienden a desaparecer, proporcionando un patrón mucho más homogéneo. En España no existe un patrón geográfico claro, destacando solamente la provincia de Gran Canaria como área de mayor mortalidad.

La mortalidad por cáncer de mama en España comienza a descender en el año 1992, a un ritmo del 2% anual (López-Abente et al., 2003). Este patrón de disminución afecta a todas las Comunidades Autónomas, aunque el inicio del descenso se produce en diferente momento. El descenso de la mortalidad más acusado es en Navarra, siendo de un 8% anual a partir de 1995, seguido de la

Rioja y Castilla-León. Navarra fue la primera Comunidad Autónoma que implantó un programa de diagnóstico precoz, en 1990.

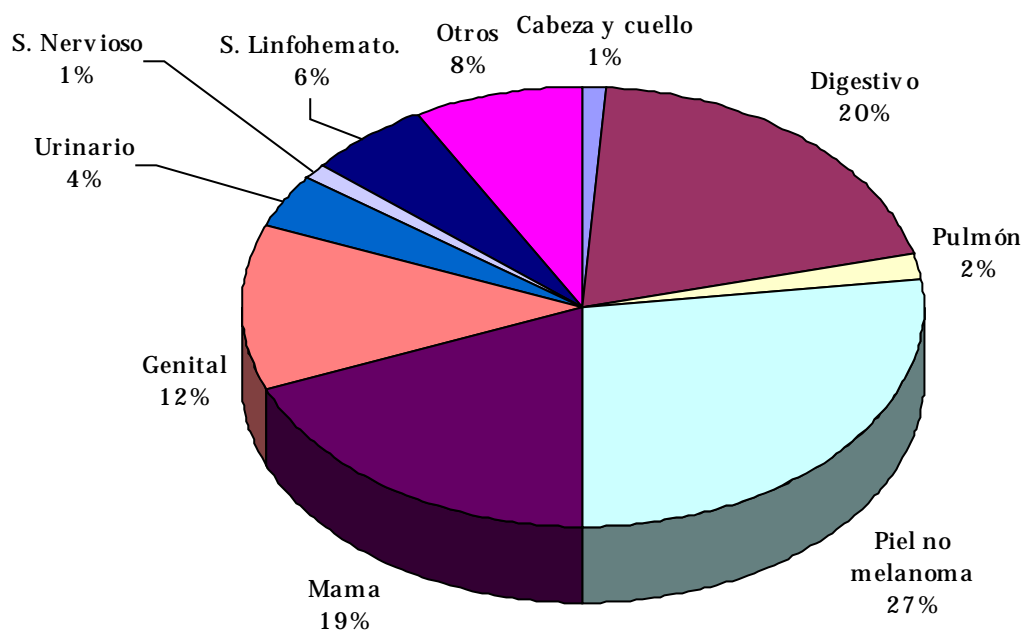
El cáncer de mama muestra una gran influencia hormonal. Muchos de los factores de riesgo establecidos -menarquia temprana, menopausia tardía, nuliparidad, edad tardía del primer embarazo y obesidad en mujeres posmenopáusicas-, suponen una mayor exposición de la glándula mamaria a los estrógenos circulantes. Por otra parte, la terapia hormonal posmenopáusica incrementa ligeramente el riesgo (Armstrong et al., 2000; Verkasalo et al., 2001). Otras exposiciones de riesgo investigadas en la literatura incluyen el sedentarismo, la exposición precoz a altas dosis de radiaciones ionizantes, el consumo de alcohol, los anticonceptivos orales, el alto consumo de grasa, el menor consumo de folatos, la exposición a plaguicidas organoclorados, el tabaco y los campos electromagnéticos de muy baja frecuencia (Johnson-Thompson et al., 2000). La distribución de estos factores en relación con nivel socioeconómico podría explicar la mayor incidencia observada en las mujeres de clase social más elevada. Determinadas profesiones -farmacéuticas, profesoras, trabajadoras sanitarias, empleadas de la industria química, trabajadoras de telefonía y radio y peluqueras-, muestran también una incidencia mayor, aunque es difícil deslindar la influencia de factores específicamente ocupacionales (Pollán, 2001)

Finalmente, los antecedentes familiares suponen un considerable aumento del riesgo. Las mujeres con alteraciones en alguno de los dos principales genes de susceptibilidad, BRCA1 BRCA2, tienen una probabilidad entre 60% y 80% de desarrollar cáncer de mama a lo largo de la vida (Armstrong et al., 2000). Sin embargo, estos dos genes sólo explican una pequeña proporción de los casos familiares.

Incidencia y mortalidad por cáncer de mama en la provincia de Granada, 1995-1999

En el periodo 1995-1999 se registraron 16.859 casos de cáncer, correspondientes a los sujetos residentes en la provincia de Granada, diagnosticados por primera vez de cáncer durante esos años, lo que representó una media de 3.372 casos nuevos anuales. Durante ese periodo, el mayor número de casos por órganos y aparatos correspondió, tanto en hombres como en mujeres, a la piel, seguida del aparato digestivo.

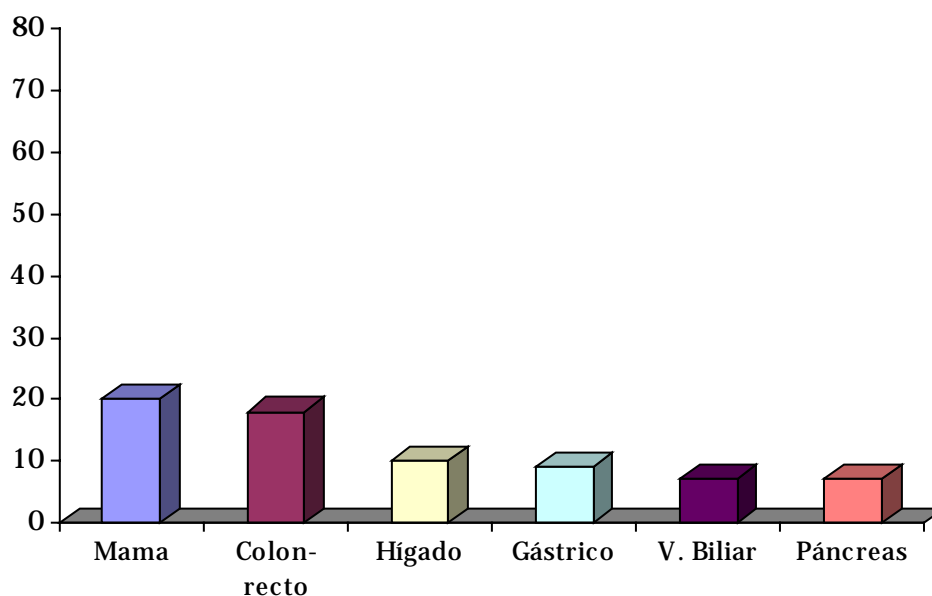
Incidencia de Cáncer. Granada, 1995-1999 Frecuencia Relativa por Órganos y Aparatos



Por localizaciones anatómicas específicas, los cánceres más frecuentes fueron el de piel no melanoma, mama y colon. Este orden de frecuencia es muy semejante al que se observa en otros registros de cáncer de población española, si bien, las tasas de incidencia de casi todos los cánceres son más elevadas en el norte que en sur de España. Como se aprecia en el gráfico, el cáncer de mama representó el 19% de todos los cánceres registrados en dicho periodo.

Mortalidad media anual por cáncer. En la provincia de Granada y en el periodo referido el número de defunciones por esta causa fue de 7688 casos, lo que representó una media de 1540 defunciones por año. La tasa bruta de mortalidad media anual fue de 140,7 por 100.000 mujeres. Por localizaciones anatómicas específicas, las tasas de mortalidad por cáncer más elevadas fueron para el de mama, colon-recto, hígado, estómago, vesícula biliar y páncreas. Éstos representan el 51% del total de mortalidad por cáncer en la mujer.

Mortalidad por cáncer. Granada 1995-1999
Tasas brutas por 100.000 hab



1.2 ETIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA

Existe unanimidad en el hecho de que la etiología del cáncer de mama es desconocida. Sin embargo, los factores de riesgo que se han asociado al mismo son múltiples. Así por ejemplo, se han señalado como factores de riesgo, entre otros, la edad, la vida reproductiva, algunos factores hormonales, la dieta, factores genéticos (BRCA1, BRCA2), la exposición a radiaciones ionizantes y algunos factores ocupacionales y de estilo de vida, como son la exposición a pesticidas organoclorados y otros disruptores endocrinos (Sasco, 2003)

A pesar de ello, alrededor de la mitad de las mujeres que desarrollan cáncer de mama no tienen factores de riesgo identificables, aparte del hecho de ser mujeres y de envejecer. A este respecto es importante recordar que factor de riesgo no es equivalente a factor causal y, por sí mismo, un factor de riesgo no es suficiente para que aparezca este tumor.

La otra mitad de los cánceres de mama sí que pueden ser asociados con factores de riesgo establecidos o, en sentido contrario, relacionados con ciertos factores que parecen ejercer protección frente a la enfermedad (Harris et al., 1992; Madigan et al., 1995):

- Sexo
- Edad avanzada
- Menarquia precoz
- Menopausia tardía
- Edad avanzada del primer embarazo a término

Por esta razón, existe un interés creciente en establecer cuál es el papel que juegan los diferentes factores enunciados y, entre ellos, la exposición estrogénica en la etiología del cáncer de mama (Davis et al., 1993; Davis et al., 1997; Snedeker, 2001)

A este respecto, son numerosos los trabajos que han aparecido en los últimos veinte años tratando de establecer una asociación entre los niveles de compuestos organoclorados en tejido adiposo y/o sangre y el riesgo de cáncer de mama, bajo la hipótesis de que algunos de estos compuestos bioacumulables y persistentes tienen actividad biológica que los hacen semejantes en cuanto a acción hormonal a los estrógenos naturales, de tal manera que a mayor

exposición (tiempo y concentración) al organoclorado, habrá ocurrido mayor estímulo estrogénico del tejido mamario.

Los resultados son dispares, ya que frente a unos pocos trabajos en los que se demuestra asociación positiva entre los niveles de DDT/DDE, dieldrín, aldrín y lindano y el riesgo de cáncer de mama, el resto de trabajos no han podido establecer esa relación (Snedeker, 2001; Ibarluzea et al., 2004)

Son varios los estudios descriptivos y de cohortes que han observado una fuerte relación entre el riesgo de cáncer de mama y los niveles en sangre y tejido adiposo de DDT y DDE. Sin embargo, la mayoría de los trabajos en los que emplean estudios casos-control y casos-control anidados no apoyan la hipótesis medioambiental en la etiología de la patología mamaria maligna (Snedeker, 2001). Como muy bien analiza Snedeker en una revisión exhaustiva, pueden existir una serie de factores que justifiquen las diferencias encontradas en los distintos estudios y que no han sido controlados de forma adecuada (Snedeker, 2001):

- Métodos analíticos empleados
- Factores dietéticos
- Climaterio
- Historia de lactancia
- Fenotipo receptor estrogénico
- Grupos étnicos/raciales
- Características del tumor

En este sentido, los estudios en los que se mide acumulación de componentes organoclorados, especialmente DDT/DDE, en el tejido adiposo y sangre, frente a los que sólo utilizan la medida en sangre, podrían ser más interesantes para esa hipótesis medioambiental.

Los resultados de los estudios epidemiológicos que han utilizado grasa como fuente de medida parecen ser algo más convincentes en la demostración de la hipótesis.

En el trabajo desarrollado por Falck y colaboradores, en el que miden los niveles de residuos químicos en el tejido adiposo de la glándula mamaria de mujeres con un proceso neoplásico y los compara con los niveles de mujeres sin

patología mamaria, se demuestra que el DDE está un 50% más elevado en el tejido graso mamario de las enfermas afectas de cáncer de mama, lo que se acompaña de un riesgo relativo mayor para aquellas con concentraciones mayores (Falck et al., 1992). Esto es apoyado por Aronson y colaboradores, que defienden que las muestras de tejido adiposo cuentan con la ventaja de tener valores más altos de pesticidas organoclorados que las muestras de sangre y representan con más precisión la bioacumulación del compuesto químico (Aronson et al., 2000)

Además, a esto hay que añadir un incremento del riesgo cuando se determinan los niveles de DDE en pacientes con tumores receptor estrogénico positivo (RE+), hecho que no ocurre en las pacientes con receptor estrogénico negativo (RE-) (Dewailly et al., 1994), lo cual vendría a apoyar la hipótesis de un efecto hormonal, mediado a través del receptor estrogénico.

En la misma dirección Güttes y colaboradores han documentado una relación positiva entre los niveles tisulares de DDE y el riesgo de cáncer de mama en un estudio casos-control realizado en Hesse (Alemania). Se encuentra un aumento significativo de los niveles de p, p´DDE en tejido graso mamario cercano al tumor mamario maligno (65 casos), comparado con los niveles en el tejido graso mamario obtenido de mujeres con patología mamaria benigna (20 controles) (Güttes et al., 1998)

Si atendemos a aquellos trabajos que centran sus mediciones en muestras de suero, nos encontramos que a comienzos de la década de los años noventa, Wolff y colaboradores realizan un estudio prospectivo casos-control anidado en el que obtiene muestras de sangre entre los años 1985 y 1991 de 14,290 mujeres sanas. La cohorte de mujeres que desarrollaron cáncer (58) y los controles (171) fueron apareados por la edad de entrada en el estudio, presencia o no de menopausia, y fecha de la donación de sangre. El riesgo relativo de desarrollar cáncer de mama era cuatro veces más alto en mujeres con niveles elevados en sangre de DDE (Odds ratio 3,68; intervalo de confianza 95% 1,01-13,50, $p=0,035$) (Wolff et al., 1993)

Sin embargo, el mismo equipo dirigido por la doctora Wolff, en un estudio de seguimiento posterior que incluye 148 pacientes con cáncer de mama y 295 controles apareados, no puede confirmar estas observaciones de un

incremento del riesgo de patología mamaria maligna con niveles altos de DDE (Wolff et al., 2000)

En un estudio llevado a cabo en Méjico, país que en el año 2000 aún utilizaba DDT para el control de las enfermedades vehiculizadas por el mosquito, Romieu y colaboradores también encuentran asociación positiva entre niveles en suero de p, p´ DDE (el metabolito mayoritario del DDT) y el riesgo de cáncer de mama (Odds ratio 3,81; intervalo de confianza 95% 1,14-12,80, p=0,02) pero no en relación con los niveles de p, p´ DDT. Se trata de un estudio casos-control de 120 mujeres con cáncer de mama y 126 controles apareados por edad (Romieu et al., 2000)

A pesar del progreso establecido en este campo, lo cierto es que la investigación en la evolución de los niveles de compuestos organoclorados y de la carga estrogénica durante el curso de la enfermedad ha merecido muy poca atención. No obstante, se ha señalado una importante movilización de los xenobióticos, acumulados en tejido adiposo, como consecuencia del tratamiento oncológico, sobre todo en los casos en que las pacientes reciben tratamiento quimioterápico (Gammon et al., 1996). En el mismo sentido hay datos que sugieren que el tratamiento quimioterápico en pacientes con linfoma no Hodgkin modifica los niveles séricos de compuestos organoclorados (Baris et al., 2000)

También se ha constatado que la concentración de pesticidas organoclorados, sobre todo p, p´DDE y hexaclorobenceno, en sangre y en tejido adiposo se incrementa de forma estadísticamente significativa con la pérdida de peso, ya que durante la misma se produce movilización de los lípidos y hay un descenso de los mismos en la grasa magra y esto tiene como consecuencia un incremento de estos contaminantes liposolubles en sangre y una redistribución al tejido adiposo (Chevrier et al., 2000; Imbeault et al., 2001; Charlier et al., 2002; Pelletier et al., 2002; Pelletier et al., 2003)

Observaciones clínicas de gran interés a este respecto han sido enunciadas por otros grupos de trabajo que vienen a confirmar la movilidad de los depósitos grasos de compuestos bioacumulados. A propósito de esto, Charlier y colaboradores consideran que la gastroplastia realizada en la cirugía de la obesidad para la pérdida de peso podría ser un factor de riesgo en el contexto de la disrupción endocrina, ya que durante la pérdida de peso que

ocurre tras esta intervención se incrementa la concentración en plasma de contaminantes liposolubles (DDT, DDE, HCB...) (Charlier et al., 2002)

El significado de este fenómeno no es bien entendido pero la presencia masiva en sangre de compuestos con actividad hormonal podría condicionar la evolución de las pacientes y contribuir a la respuesta tumoral.

En este sentido, uno de los aspectos no suficientemente estudiados es el seguimiento, tanto clínico como bioquímico, de las pacientes intervenidas de cáncer de mama para determinar si existe relación entre el cambio cuantitativo en los niveles de algunos pesticidas organoclorados en el tejido adiposo (tomando grasa mamaria y abdominal) y en el suero de dichas mujeres, tras ser sometidas a la intervención quirúrgica y posteriormente recibir tratamiento adyuvante con quimioterapia y/o radioterapia y/o hormonoterapia, y la evolución de la enfermedad tumoral.

1.2.1 Estrógenos y riesgo de cáncer de mama

La relación existente entre los estrógenos y el cáncer de mama es conocida desde hace más de 100 años, cuando George Beatson demostró que mediante la ooforectomía bilateral se conseguía una remisión del mismo en mujeres premenopáusicas (Beatson, 1896)

Las hormonas ováricas, incluidos estrógenos y progesterona, se relacionan con el riesgo de cáncer de mama porque afectarían al índice de proliferación celular en la mama o mantendrían el crecimiento de tumores mamarios estrógeno-dependientes (Preston-Martin et al., 1990; Pike et al., 1993; Snedeker et al., 1996; Mustafa et al., 1998; Russo et al., 1998)

Existe un número importante de publicaciones científicas que demuestran una asociación positiva entre los niveles plasmáticos de estrógenos (estradiol, estrona, estrona sulfato y dehidroepiandrosterona sulfato) y el riesgo de padecer cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas (Hankinson et al., 1998)

Teniendo presente esta idea, se sabe que en el medio ambiente están presentes ciertas sustancias que, una vez incorporadas al organismo, son capaces de comportarse como los estrógenos y que, en consecuencia, estarían también en relación con el cáncer de mama. Se ha acuñado el término xenobiótico estrogénico y, en sentido más amplio, disruptor endocrino para definir a estos compuestos.

1.2.1.1 Homeostasis de los estrógenos

Debido a la estrecha relación entre el riesgo de cáncer de mama y la exposición a estrógenos, es importante examinar distintas variables en la homeostasis estrogénica. En la mujer premenopáusica, los ovarios, que están bajo el control cíclico de las gonadotropinas, son la principal fuente endógena de estrógenos, y sólo una pequeña parte de los estrógenos en suero procede de los tejidos periféricos. En contraste, la pequeña cantidad de estrógenos producida en el periodo posmenopáusico procede predominantemente de la aromatización de los andrógenos adrenales y ováricos en tejidos extragonadales como el hígado, músculo y tejido graso (Santen et al., 1986). La aromatasa es la enzima que cataliza la conversión de androstendiona en estrona. Asimismo, cataliza la conversión de testosterona en estradiol. De este modo se ha

comprobado que en mujeres posmenopáusicas afectas de cáncer de mama existe un incremento en la actividad periférica de la aromatasa (Purohit et al., 2002). Aunque los estrógenos pueden tener un efecto beneficioso en algunos tejidos, como el hueso y el sistema cardiovascular, también juegan un papel crucial en el crecimiento y desarrollo del cáncer de mama. Han sido identificados un número importante de factores, incluidos la interleukina-6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alpha (TNF-alpha) y la prostaglandina E₂ (PGE₂), que pueden estimular la actividad de la aromatasa.

Como la concentración en plasma de algunas citokinas aumenta en la menopausia, esto puede explicar el incremento de la actividad de la aromatasa a nivel periférico en las mujeres mayores. Se piensa que los macrófagos y los linfocitos que infiltran el tejido mamario son una fuente importante de citokinas que pueden estimular la actividad de la aromatasa en ese tejido. Hay diversos estudios que sugieren que el metabolito de los estrógenos endógenos, 2-metoxiestradiol, puede modular la capacidad de las citokinas y PGE₂ para estimular a la aromatasa (Purohit et al., 2002)

Además se conocen factores genéticos y medioambientales que influyen en la homeostasis de los estrógenos y en la exposición específica de los tejidos a éstos y a sus metabolitos.

Se cuenta además con datos experimentales que demuestran que los estrógenos juegan un papel importante en el desarrollo y crecimiento del cáncer de mama (Lupulescu, 1995). Sin embargo, aún no está totalmente claro cuáles son los mecanismos exactos por los que los estrógenos están implicados en ese desarrollo. Así se ha postulado que:

- 1.- La alquilación de ciertas moléculas celulares y la generación de radicales activos, que pueden dañar el DNA (Nandi et al., 1995), junto con el potencial genotóxico de los estrógenos y algunos de sus metabolitos parecen estar implicados en dichos mecanismos (Nandi et al., 1995; Yager et al., 1996)
- 2.- Los estrógenos promueven el desarrollo de cáncer de mama en roedores y ejercen efectos proliferativos directos e indirectos en los

cultivos de células mamarias cancerosas humanas (Lupulescu, 1995):

2.1. Los efectos directos de la iniciación tumoral son la inducción de enzimas y proteínas involucradas en la síntesis de ácidos nucleicos y la activación de oncogenes.

2.2 Dentro de los efectos indirectos, cabe destacar la estimulación de la producción de prolactina y la producción de factores de crecimiento (por ejemplo, factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor α de transformación de crecimiento (TGF α)) y otros factores peptídicos (por ejemplo, activadores del plasminógeno (PA)) (Clemons et al., 2001)

3.- El desarrollo tumoral también puede ser el resultado de que, sobre un órgano, cuya función y crecimiento normales están bajo control endocrino, exista una estimulación de la proliferación celular excesiva (Henderson et al., 1982)

La respuesta de un órgano a los efectos proliferativos de una hormona puede ser la progresión de las células de dicho órgano de un crecimiento normal a una hiperplasia, posterior desarrollo de displasia y de ésta a un proceso neoplásico. Según este modelo experimental, el riesgo de cáncer de mama puede ser determinado por una exposición acumulada del tejido mamario a los estrógenos (Pike et al., 1993)

Hay evidencias indirectas en esa secuencia descrita anteriormente (células normales-hiperplasia-displasia-cáncer), que incluyen un incremento del riesgo de padecer cáncer de mama asociado a una edad temprana de la menarquia, embarazo a edad avanzada, una menopausia tardía, no haber tenido hijos o no haberlos amamantado, así como una reducción del riesgo de cáncer de mama cuando la menopausia acontece a edad temprana (Paffenbarger et al., 1980; Rosner et al., 1996)

La característica común a todos los factores anteriormente señalados es el incremento de la exposición a las formas biológicamente activas de los estrógenos a lo largo de la vida, es decir, un mayor tiempo de exposición. Las mujeres con menarquia precoz y menopausia tardía tienen una actividad ovárica más prolongada.

Otros factores, de carácter general, pueden también contribuir a la variación individual en la exposición interna a los estrógenos y modificar los valores de la hormona circulante (Fernández et al., 1998). Entre estos destacan:

Obesidad. La biodisponibilidad de los estrógenos en los tejidos no depende sólo de la producción de hormona y de la concentración en la circulación, sino también de la cantidad de hormona unida a la proteína transportadora de hormona sexuales (SHBG). De manera que altas concentraciones de SHBG disminuyen la cantidad de estradiol libre en la circulación, capaz de entrar en la célula. Las mujeres obesas posmenopáusicas tienen en sangre una concentración de globulinas transportadoras de hormonas sexuales baja y en consecuencia una alta biodisponibilidad de estrógenos libres en contraste con mujeres posmenopáusicas sin sobrepeso. De manera que, en mujeres posmenopáusicas, existe una correlación positiva entre el peso y el riesgo de cáncer de mama (Thomas et al., 1997; Clemons et al., 2001; Travis et al., 2003)

En la mayoría, pero no en todos los estudios prospectivos y casos-control, se demuestra que existe una asociación inversa entre el peso y el riesgo de cáncer de mama en mujeres premenopáusicas. Sin embargo, la mayoría de los trabajos han observado una asociación positiva entre la obesidad y el riesgo de desarrollo de la enfermedad neoplásica en mujeres posmenopáusicas (Cleary et al., 1997; Carmichael et al., 2004). El proceso neoplásico maligno entre mujeres posmenopáusicas está fuertemente asociado con el Índice de Masa Corporal (IMC), calculado como kilogramos de peso dividido por la estatura en metros al cuadrado. Existe un incremento del riesgo de cáncer de mama de un 30% entre obesas posmenopáusicas ($IMC \geq 30 \text{ Kg/m}^2$) comparado con mujeres con un IMC normal ($IMC \leq 25 \text{ Kg/m}^2$) (International Agency for Research on Cancer, 2002)

Además, Carmichael y colaboradores, han sugerido que un alto índice de masa corporal está relacionado con un mayor estadio tumoral en términos de tamaño de la lesión en el momento del diagnóstico. Sin embargo, los datos en

cuanto a la afectación ganglionar no son concluyentes (Carmichael et al., 2004). En el mismo estudio, observan que no existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la supervivencia ni en cuanto al intervalo libre de enfermedad entre obesas y no obesas, es decir, la obesidad no es un indicador de mal pronóstico de cáncer de mama (Carmichael et al., 2004)

Es importante destacar que la obesidad está asociada, no sólo a un incremento de la incidencia de cáncer de mama, sino también de endometrio, próstata y colon. A pesar de la disminución en la producción de estrógenos gonadales y de los niveles en plasma después de la menopausia, la incidencia de cáncer de mama se incrementa con la edad, posiblemente por la transformación periférica de proestrógenos en estrógenos ya que el tejido adiposo en posmenopáusicas es cuantitativamente el lugar más importante de aromatización de andrógenos a estrógenos y así la mayor fuente de síntesis extraglandular de estrógenos (Szymczak et al., 1998)

Por otro lado, las mujeres obesas premenopáusicas tienen ciclos menstruales más largos y más ciclos anovulatorios que las mujeres no obesas premenopáusicas, lo que se traduce en una menor exposición total a estrógenos y una reducción en el riesgo de cáncer de mama (Henderson et al., 1985). Es posible que esta asociación sea debida a que en mujeres posmenopáusicas, la concentración de estrógenos circulantes depende de la producción extraglandular de los mismos en tejido adiposo. Esto no sucede en mujeres premenopáusicas, debido a que en éstas, la mayor parte de estrógenos son producidos por los ovarios y están sometidos a una regulación homeostática que incluye un “*feedback*” negativo por parte de las gonadotropinas. De manera que los niveles de estrógenos en la premenopausia no están directamente relacionados con los niveles del tejido adiposo, ocurriendo, paradójicamente todo lo contrario: la obesidad en premenopáusicas está asociada a una disminución del riesgo de cáncer de mama (International Agency for Research on Cancer, 2002)

Menarquia precoz/menopausia tardía. El desarrollo sexual secundario precoz y especialmente la menarquia temprana también se han asociado con un mayor riesgo de cáncer de mama. La duración de la exposición a hormonas ováricas está estrechamente relacionada con el riesgo de padecer este tipo de cáncer: por cada año de retraso en la aparición de la menarquia existe una reducción del 5% en el riesgo de desarrollar cáncer de mama con posterioridad. Asimismo, por cada año de retraso en la menopausia existe un aumento del riesgo de desarrollo de cáncer de mama un 3% (Travis et al., 2003)

Se ha observado que mujeres que tienen menarquia a edad temprana tienen niveles de estradiol más altos en suero y menor concentración de hormonas sexuales unidas a proteínas que mujeres con menarquia tardía, al menos durante unos años de su vida fértil. Esta observación serviría de explicación mecanicista al proceso, ya que el estradiol es el agente central en el proceso de aparición de cáncer de mama, mientras que la progesterona no parece tener una acción opuesta. También se ha descrito que una disminución de los ciclos ovulatorios puede ejercer efecto protector en el riesgo cáncer de mama (Vihko et al., 1986)

Ejercicio, alimentación, modo de vida. Las diferencias en el ejercicio diario y en la ingesta en la dieta de ciertos nutrientes puede también influir en la exposición a estrógenos. Con respecto a la actividad física se ha sugerido que aunque ésta sea moderada, puede disminuir el número de ciclos anovulatorios y, quizás por esta razón, reducir el riesgo de cáncer de mama.

La actividad física, tanto en mujeres premenopáusicas como en posmenopáusicas, reduce el riesgo de cáncer de mama un 20-40%. En parte, en posmenopáusicas, esa disminución del riesgo puede ser debida a que el ejercicio físico previene la ganancia de peso y la obesidad (Hoffman-Goetz et al., 1998; International Agency for Research on Cancer, 2002)

Observaciones tales como las diferencias en la incidencia de cáncer de mama entre poblaciones, o aquellas basadas en estudios de mujeres que migran desde “áreas de bajo riesgo” a otras de “alto riesgo”, han sugerido que la dieta es probablemente el factor más importante en la etiología del cáncer de mama. Sin embargo, después de varias décadas de estudio, son todavía muchos los aspectos que permanecen poco claros. La principal sospechosa, la grasa animal,

se mantiene, ya que la distribución geográfica de las dietas ricas en grasa animal coincide con las áreas de mayor incidencia de cáncer, y en estudios experimentales con modelos animales, dietas ricas en esta grasa incrementan el riesgo de enfermedad (Fernández et al., 1998)

Hay estudios contradictorios en cuanto a la relación entre la probabilidad de padecer cáncer de mama y la ingesta de alcohol (Cade et al., 1998; Holmes et al., 1999), vitaminas antioxidantes y dieta rica en fibra (Ferguson et al., 1999; Zhang et al., 1999; Potischman et al., 1999). Por otra parte, está bien documentado el hecho de que existen plantas que contienen fitoestrógenos, los cuales son estructuralmente parecidos a los estrógenos animales. La soja es una fuente abundante de fitoestrógenos y cuando es ingerida en cantidad suficiente, los fitoestrógenos contenidos pueden ejercer tanto en humanos como en animales efectos estrogénicos agonistas y antagonistas (Thompson et al., 1996)

Los lignanos, componentes de ciertas plantas, son metabolizados en el intestino produciendo los fitoestrógenos, enterolactona y enterodiol. La reducción del riesgo de cáncer de mama en mujeres con una alta excreción de lignanos en orina podría estar relacionada con una inhibición competitiva con los estrógenos endógenos (McCann et al., 2002). Enterodiol y enterolactona muestran débil acción estrogénica y antiestrogénica, y se ha sugerido que una alta producción de esos lignanos en el intestino puede servir de protector contra el cáncer de mama en la mujer y el cáncer de próstata en el hombre (Wang, 2002)

La semilla del lino (linaza), es una fuente de lignanos y de ácido α -linoléico, los cuales ejercen efecto antiestrogénico mediante el bloqueo de los receptores estrogénicos y la inhibición de la síntesis de estrógenos (Brzezinski et al., 1999). La incidencia de cáncer de mama es menor en regiones donde la ingesta de soja y de la semilla del lino es alta (Barnes et al., 1998; Brzezinski et al., 1999)

También se ha estudiado la relación entre cáncer de mama y algunos micronutrientes. Así, algunos estudios han encontrado que beta-caroteno, vitamina E y calcio están inversamente asociados con este proceso neoplásico. No se han encontrado asociaciones significativas con otros, como por ejemplo retinol, vitamina C, tiamina, riboflavina hierro o potasio (Fernández et al., 1998)

Estrógenos exógenos (Anticonceptivos orales). En cuanto a la administración de hormonas exógenas los estudios epidemiológicos iniciales mostraban un pequeño incremento en el riesgo de cáncer de mama con el uso de anticonceptivos hormonales orales (AHO) (Hankinson et al., 1997). Sin embargo, de otros estudios se desprende que las mujeres que toman de manera habitual AHO durante un largo periodo de tiempo (Ursin et al., 1998) y las que comienzan el tratamiento a edad muy temprana, tienen mayor riesgo de padecer cáncer de mama (Tryggvadottir et al., 1997; Ursin et al., 1998; Clemons et al. 2001). Comparado con las mujeres que no los han utilizado nunca, la ingesta habitual de AHO conlleva una modesta elevación del riesgo, que disminuye después de 10 años de cesar su uso (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormonal contraceptives 1996^a y 1996^b)

Una historia familiar de cáncer de mama no modifica el efecto de los AHO en cuanto al riesgo en general (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormonal contraceptives 1996^a), pero el uso de AHO puede incrementar el riesgo de padecer este tipo de cáncer en mujeres con mutaciones BCRA1 o BCRA2 (Ursin et al., 1997)

El efecto hormonal de los AHO en la mama es complejo. De una parte los AHO producen a menudo protección anovulatoria; de otra, la mezcla de estrógenos y progestágenos puede estimular la actividad mitótica en el tejido mamario (Pike et al., 1983; Clemons et al., 2001)

Estrógenos exógenos (Terapia Estrogénica de Reemplazo)

La terapia estrogénica de reemplazo (sustitutiva), utilizada para combatir los síntomas de la menopausia, ha sido implicada como un factor de riesgo de cáncer de mama en mujeres posmenopáusicas (Clemons et al., 2001). El incremento del riesgo está relacionado con la duración de la terapia estrogénica y está presente sólo durante el tiempo de tratamiento y por un corto periodo de tiempo tras la suspensión del mismo (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy 1997; Persson et al., 1999; Magnusson et al., 1999)

La terapia combinada de estrógenos y progestágenos incrementa el riesgo de cáncer de mama más que los estrógenos solos (Schairer et al., 2000)

Sin embargo, pese a que existe un aumento en el riesgo de cáncer en mujeres posmenopáusicas en tratamiento con estrógenos o estrógenos-progestágenos, en conjunto la mortalidad en esas mujeres está disminuida porque hay pocas muertes relacionadas con enfermedad cardiovascular y osteoporosis (Grodstein et al., 1997; Col et al., 1999)

Por esto último, el incremento substancial en el riesgo de cáncer de mama entre las mujeres que toman hormonas, sugiere que se debe evaluar cuidadosamente el riesgo-beneficio de forma particular (Colditz et al., 1995) Parece entonces prudente restringir la terapia hormonal sustitutiva para pacientes sintomáticas y con clara indicación y de acuerdo con la tendencia actual, suspenderla temporalmente (Emons et al., 2002)

1.3 DISRUPTORES ENDOCRINOS Y XENOESTRÓGENOS

Los disruptores endocrinos son sustancias químicas naturales o sintéticas que mimetizan, intensifican o inhiben la acción de las hormonas endógenas (Borgeest et al., 2002). Se ha sugerido como hipótesis que algunos efectos adversos sobre la salud humana y de poblaciones animales, como el incremento de determinados tipos de neoplasias, las malformaciones y disfunciones del aparato reproductor, algunas formas de neurotoxicidad o el fracaso en la respuesta inmune, podrían deberse a la exposición a sustancias químicas con capacidad de alterar el equilibrio hormonal. La evidencia de esta asociación, demostrada en la vida salvaje, ha generado el contexto doctrinal en el que se basa la hipótesis de la disrupción endocrina (Colborn et al., 1992)

En 1979 se celebró la conferencia *Estrogens in the Environment I* en el Instituto Nacional de Salud y Medio Ambiente americano (NIEHS) donde se advirtió de la presencia medioambiental de sustancias que se comportaban como hormonas. Se estableció, asimismo, de una manera sencilla que estos compuestos imitarían a la hormona uniéndose a su receptor, provocando el mismo espectro de efectos biológicos que la hormona natural, o bien antagonizarían el efecto hormonal bloqueando el receptor correspondiente. En ambos casos el resultado final sería una alteración del equilibrio hormonal con consecuencias difícilmente predecibles. En 1979 no se tenía todavía mucha información sobre los efectos de estas sustancias sobre la salud humana, por lo que gran parte de las conclusiones eran puramente especulativas. No fue hasta

la siguiente conferencia *Estrogens the Environment II* (NIEHS) celebrada en 1985 cuando se presentaron datos que revelaban el efecto de los xenoestrógenos sobre el desarrollo humano. Se demostró, asimismo, la ubicuidad de estas sustancias y se presentó información sobre la variabilidad de sus potencias como hormonas exógenas, tanto de los agonistas como de los antagonistas hormonales (McLachlan et al., 1993)

En 1991 se celebró la Conferencia de Wingspread en Wisconsin (USA) donde se concluyó que un gran número de sustancias químicas, sintetizadas por el hombre y liberadas al medio ambiente, así como algunas sustancias naturales, tienen efecto sobre el sistema endocrino del hombre y de los animales.

Se trata de compuestos persistentes, organohalogenados y bioacumulables que incluyen algunos plaguicidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas), compuestos de síntesis y algunos metales. Incluso se acuñó un nombre para este tipo de compuestos químicos, los cuales se conocen desde entonces con el nombre de disruptores endocrinos (Colborn et al, 1992). En España este nombre fue aceptado por consenso en la primera Conferencia Nacional de Disruptores Endocrinos celebrada en Granada en 1996.

Con posterioridad a la Conferencia de Wingspread, otras reuniones científicas como las celebradas en Weybridge 1996 (UK), de nuevo en Wingspread (1997) y más recientemente en Aronsborg (Suecia, 2002) han servido para sentar las bases conceptuales de la disrupción endocrina, definir la forma de aproximación científica más apropiada y la correcta evaluación de la importancia de los disruptores hormonales en la salud humana y de las especies animales. Las conclusiones de la Conferencia de Aronsborg bien merecen un comentario, ya que cubren muchas de las expectativas de la comunidad científica, la industria y los organismos reguladores interesados en dar una respuesta coherente al problema. Cuatro son los grandes epígrafes del documento, tratando sobre: *a)* la necesidad de intercambio de información y de cooperación internacional; *b)* la definición de las líneas prioritarias de investigación y desarrollo; *c)* la implementación de una estrategia de criba y métodos de ensayo, y *d)* el establecimiento de programas de monitorización.

El término disruptores endocrinos (Endocrine Disrupting Chemicals / EDCs) define hoy día un grupo sustancias químicas de muy diferente origen, estructura y uso. Se trata de sustancias exógenas al organismo, naturales o sintéticas, que

interfieren con la producción, liberación, transporte, metabolismo, unión, acción biológica o eliminación de las hormonas responsables del mantenimiento de la homeostasis y regulación del desarrollo.

Los efectos hormonales de los disruptores endocrinos pueden ser debidos a que (Fernández et al., 1998; Sonnenschein et al., 1998):

- 1.- Mimetizan los efectos de hormonas endógenas, como los estrógenos y andrógenos.
- 2.- Antagonizan los efectos normales de las hormonas endógenas.
- 3.- Alteran el patrón de síntesis y metabolismo de hormonas naturales.
- 4.- Modifican los niveles de los receptores hormonales.

Se ha sugerido que los disruptores endocrinos presentan características particulares que los hacen distintos a otros tóxicos medioambientales y que condicionan cualquier aproximación a la relación de causalidad buscada entre exposición y enfermedad (Colborn et al., 1993; Ohi et al., 1999)

Esta forma especial de toxicidad podría deberse a que se dan algunas de las circunstancias enunciadas a continuación como resumen de las diferentes aproximaciones conceptuales al problema de la disrupción endocrina (Colborn et al., 1993; vom Saal, 1995; Arnold et al., 1996; Ohi et al., 1999):

1.- El momento de la exposición es decisivo para determinar el carácter, la gravedad y la evolución posterior del efecto. Los efectos son distintos sobre el embrión, el feto, el organismo perinatal o el adulto. Si actúan durante un periodo crítico, como por ejemplo, en los estadios tempranos de la vida caracterizados por una rápida diferenciación celular y organogénesis, producen lesiones irreversibles.

2.- Los efectos pueden no aparecer en el momento de la exposición. Las consecuencias se manifiestan con mayor frecuencia en la progenie que en el progenitor expuesto. La exposición embrionaria puede tener consecuencias que no son evidentes hasta la madurez del individuo.

El desarrollo anormal no se expresa necesariamente en el nacimiento; sus efectos pueden permanecer latentes durante años o hacerse patentes en la descendencia en lugar de en los individuos expuestos.

3.- No existe un umbral de concentración preciso para el desarrollo del efecto toxicológico, o al menos ese nivel de concentración es muy inferior al reconocido como límite de seguridad para otros aspectos toxicológicos distintos de la disrupción endocrina.

4.- Es posible la acción combinada de los disruptores que pueden adquirir, al actuar conjuntamente, un efecto paradójico ya sea sinérgico, antagónico o simplemente aditivo.

Como se ha reflejado anteriormente, una de las acciones hormonales mejor documentada atribuible a los disruptores endocrinos es su capacidad de mimetizar o bloquear el efecto de los estrógenos, es decir, la posibilidad de actuar como un estrógeno o como un antiestrógeno. La potencia estrogénica de estos compuestos es muy variable y abarca desde mimetizadores tan potentes como el mismo estradiol a débiles agonistas que tan sólo tienen actividad parcial y a muy altas concentraciones. Todo esto ha llevado a considerar de forma especial dentro del grupo de los disruptores endocrinos a esta clase de moléculas que se incluyen todas bajo el epígrafe de xenoestrógenos, entendiendo por tales todos aquellos compuestos que manifiestan actividad estrogénica en ensayos *in vitro* e *in vivo* independientemente de su estructura química, procedencia y aplicaciones.

Son numerosas las sustancias químicas contaminantes y carcinogénicas que están presentes en la secreción de leche materna de la glándula mamaria y en el tejido adiposo mamario. Estas sustancias incluyen pesticidas, otros hidrocarburos halogenados, solventes y metales traza. Especial mención, por estar incluidos en nuestro estudio, merecen los pesticidas organoclorados. Estos compuestos liposolubles se acumulan y persisten en el tejido adiposo humano, alcanzando niveles 200-300 veces más alto en la grasa que en el suero. Debido a la presencia mamaria de estos compuestos parece interesante investigar la

relación existente entre los niveles tisulares y el riesgo de transformación maligna.

1.3.1 Exposición a disruptores endocrinos

Parece evidente que los problemas de la exposición humana a disruptores endocrinos y las consecuencias sobre la salud deben ser abordados desde muy diferentes perspectivas y con propósitos muy distintos que deberían ir más allá de los estudios de cribado e identificación de nuevos disruptores endocrinos. El conocimiento, tan sólo parcial, del funcionamiento del sistema endocrino, dificulta, por otra parte, la interpretación de los resultados experimentales. La Comisión Europea, consciente de este hecho, ha creído conveniente incluir entre sus recomendaciones (Aronsborg, Suecia 2001) la realización de estudios que contribuyan al conocimiento de los mecanismos de actuación de las hormonas y de los mimetizadores hormonales y, sabiamente, aconseja que los estudios sobre disruptores endocrinos cuenten con el soporte de los endocrinólogos clínicos, hasta el momento demasiado ajenos a este problema de salud pública. Entre las diferentes aproximaciones al desarrollo de programas de evaluación de la exposición, destacan los estudios clínico-epidemiológicos que tratan de establecer relaciones entre la exposición a disruptores endocrinos y la frecuencia de presentación de una determinada enfermedad. Este proceso, aparentemente sencillo, requiere sin embargo la definición de instrumentos para la medida de la exposición y de las variables, que, una vez cuantificadas, permitan clasificar a los pacientes de acuerdo con su grado de impregnación. La mayoría de los ciudadanos europeos tiene niveles detectables de algunos de los compuestos químicos clasificados como disruptores endocrinos, ya sea en sangre, tejido adiposo u otros órganos corporales diversos (Schepens et al., 2001), pero lo cierto es que estos estudios hacen referencia a uno o unos pocos compuestos químicos, considerados la mayor parte de las veces de forma individualizada. Además, son escasos los estudios en humanos con una base poblacional, por lo que carecemos de indicadores fiables sobre las concentraciones internas de disruptores endocrinos según zonas geográficas, grupos de edad y género, hábitos alimentarios, ocupación, educación y clase social, entre otros factores (Porta, 2001; Porta et al., 2002)

Sería conveniente prestar especial atención a la exposición en grupos de

individuos de mayor riesgo (Olea et al., 1999; Campoy et al., 2003; Botella et al., 2003; Cerrillo et al., 2004) como son la etapa de desarrollo embrión-feto, la infancia y el embarazo, especialmente a partir del hecho de que la experiencia en modelos animales experimentales y en la fauna salvaje es lo suficientemente concluyente como para sugerir que el efecto disruptor es mucho más marcado si la exposición ha ocurrido en alguna de estas fases del desarrollo. Lo cierto es que la medida de exposición crea grandes problemas de clasificación en los diseños epidemiológicos cuando se intenta categorizar los factores de riesgo relevantes. Una clasificación incorrecta limita la posibilidad de establecer una relación causa-efecto entre la exposición a compuestos químicos con actividad disruptora endocrina y las alteraciones, objetivo que parece en algunas ocasiones inalcanzable, al menos con los instrumentos disponibles actualmente. La universalidad de la exposición, la complejidad de los mecanismos de patogenia y la separación temporal entre exposición y presentación de la enfermedad acentúan las dificultades.

1.3.1.1 Carga Estrogénica Total Efectiva (TEXB)

Con objeto de dar una solución al problema de la estimación de la exposición conjunta a varios disruptores endocrinos, se ha sugerido cuantificar en muestras biológicas y medioambientales el mayor número de compuestos químicos, estudiar las interacciones existentes entre los diversos compuestos químicos encontrados, evaluando el efecto resultante de la exposición conjunta de agonistas y antagonistas hormonales, y desarrollar biomarcadores de exposición y efecto para los compuestos hormonalmente activos (Fernández et al., 2004). En particular se han propuesto tres tipos diferentes de biomarcadores en relación con la disrupción endocrina. Los biomarcadores de exposición hacen referencia a la cuantificación de disruptores endocrinos, o sus metabolitos, y a la interacción de cualquiera de ellos con células o moléculas diana, que puedan ser identificados y cuantificados en un compartimiento corporal determinado. Por otra parte, los biomarcadores de susceptibilidad definen la capacidad del organismo, inherente o adquirida, para adaptarse a las consecuencias derivadas de la exposición a disruptores endocrinos. Y por último, los biomarcadores de efecto, se definen en términos de la alteración hormonal, bioquímica, fisiológica o de cualquier otro tipo que pueda ser medida y cuantificada y que, dependiendo de

su magnitud, pueda ser reconocida como una desviación del patrón normal, un efecto adverso o un signo de enfermedad. En lo que concierne al empleo de biomarcadores de exposición a disruptores endocrinos con actividad estrogénica, la estrategia a seguir debería considerar todos los aspectos metodológicos anteriormente definidos. Sería necesario el establecimiento de un test biológico con el que verificar la actividad hormonal responsable del efecto, así como la selección de la muestra biológica (sangre, suero, tejido adiposo...) en términos de accesibilidad, posibilidad de limpieza, separación de hormonas endógenas de xenobióticos, y preparación óptima para poder ser utilizada en el test elegido.

Nuestro grupo de trabajo utiliza el ensayo biológico de estrogenicidad E-Screen para la medida de la carga estrogénica total efectiva (TEXB), que asigna un valor de estrogenicidad a las muestras biológicas (tejido adiposo, sangre, leche materna, placenta, etc.) y convierte un biomarcador de exposición, tipo dosis interna, en un marcador de equivalencia biológica y por ende de efecto biológico (Rivas et al., 2001; Fernández et al., 2004) Este marcador está siendo aplicado con éxito en estudios epidemiológicos de muy diferente índole en los que la exposición a disruptores endocrinos estrogénicos se cuantifica mediante la medida individual de residuos químicos y, al mismo tiempo, a través de la estimación de la actividad estrogénica del extracto tisular. La aplicación del concepto de biomarcador de exposición a TEXB, y a otros ensayos de características similares, puede ser excesivamente restrictiva, puesto que con su expresión no se limitan a indicar exposición sino que establecemos un vínculo con el efecto biológico producido. Por eso creemos que la medida de la carga estrogénica total efectiva (TEXB) en muestras biológicas es, al mismo tiempo, un marcador de exposición y un marcador subrogado de efecto.

1.3.1.2 Ensayos in vitro de estrogenicidad

De los ensayos realizados *in vitro* se pueden desprender dos aspectos importantes: de un lado, la proliferación de líneas celulares estrógeno dependientes, y de otro, la inducción de una función controlada por estrógenos, como es la síntesis o la secreción de una proteína determinada. El incremento del número de células inducido por los estrógenos sobre líneas celulares establecidas ha sido reconocido biológicamente equivalente al aumento de la actividad mitótica en el endometrio del roedor tratado (Korach et al., 1993)

Las líneas celulares en cultivo procedentes de muestras tumorales de cáncer de mama humano estrógeno dependientes como MCF-7 o T47D han servido para estudiar el efecto de los estrógenos y antiestrógenos sobre el crecimiento celular y la expresión de genes dependientes del estradiol. La línea MCF-7 fue establecida por Soule en cultivo en monocapa y ha sido mantenida de forma ininterrumpida en muchos centros de investigación y utilizada en múltiples trabajos experimentales. Las células MCF-7 responden al tratamiento con estradiol incrementando su ritmo proliferativo, sintetizando nuevas proteínas y procediendo a la transcripción de ciertos genes específicos. Además, las células MCF-7 son consideradas estrógeno dependientes *in vivo*, dada la necesidad del aporte estrogénico para que las células crezcan cuando son transplantadas en el hospedador apropiado (Soule et al., 1973; Osborne et al., 1987). Las células estrógeno dependientes no proliferan cuando se exponen a un medio de cultivo suplementado con suero al que se le han eliminado los estrógenos; solamente los estrógenos naturales o sintéticos cancelan esta inhibición e inducen proliferación máxima.

Soto y colaboradores (1992) desarrollaron un ensayo biológico al que denominaron test E-Screen. El test compara el número de células o la proliferación celular obtenida después de 6 días de cultivo. Las células crecen un medio de cultivo suplementado con suero humano desprovisto de estrógenos, en presencia y/o ausencia de estradiol, así como de los compuestos químicos de sospechada actividad estrogénica. Las ventajas de este test se podrían resumir en las siguientes:

- 1.- Los resultados obtenidos utilizando este ensayo pueden ser relevantes en términos de salud humana ya que utilizan células y suero de origen humano.
- 2.- Se trata de un bioensayo altamente sensible al detectar actividad estrogénica cuando se utilizan concentraciones picomolares de estradiol.
- 3.- Es fácil de realizar y permite el análisis de compuestos químicos a gran escala y en un amplio rango de concentraciones.
- 4.- Tiene una alta especificidad.

Entre las limitaciones clásicas de los ensayos *in vitro* se encuentran los derivados de la ausencia de procesos biológicos relacionados con la vía de exposición, digestión, absorción, transporte, metabolismo o excreción, propios de un organismo vivo, que pueden conducir a que un test resulte estrogénico en un ensayo *in vitro* y no en un ensayo *in vivo* y viceversa. Sin embargo, se han realizando importantes avances que pretenden solventar parcialmente estas limitaciones (Nagel et al., 1997)

1.3.1.3 Biomarcadores de exposición y efecto

Se han podido identificar un gran cantidad de disruptores endocrinos con actividad estrogénica gracias a la utilización de los diversos ensayos con animales de experimentación. El hecho de que la exposición en el ser humano pueda ocurrir tanto de forma intencionada (fármacos) como inadvertida (xenoestrógenos), así como por medio de diferentes vías de exposición, hace que la medida de la exposición sea realmente complicada. Sin embargo, los avances en las técnicas de análisis químico permiten hoy día detectar y cuantificar sustancias a concentraciones micro o picomolar, cuestión impensable sólo hace unas décadas, facilitando la utilización de diferentes medidas de exposición en estudios de investigación clínica o epidemiológica.

Los estudios dedicados a medir la exposición han permitido poner de manifiesto que los disruptores estrogénicos presentan una amplísima distribución, encontrándose en una gran variedad de alimentos (incluido el agua de consumo), en productos utilizados en la industria alimentaria, en cosmética, en productos empleados en la práctica clínica e incluso en muestras biológicas como la leche materna, suero y tejido adiposo. Además, se sabe que la exposición humana es universal, ya que los xenoestrógenos se han identificado en todas las poblaciones estudiadas, desde los esquimales (Rubin et al., 2001), hasta las poblaciones de países en vías de desarrollo y las de los países industrializados (Romieu et al., 2000; Olaya-Contreras et al., 1998; Laden et al., 2001)

Las deficiencias existentes en la utilización de la medida de la exposición en los estudios epidemiológicos ha llevado a proponer la medida de la respuesta proliferativa del ensayo E-Screen como marcador de equivalencia biológica y por ende de efecto biológico, es decir como marcador subrogado del efecto de

disrupción endocrina (Olea et al., 2002). La medida de efecto así obtenida representaría la respuesta biológica integrada de todas las sustancias estrogénicas. La técnica representa un sistema mixto, químico-biológico, que permite a partir de muestras biológicas diversas (sangre-suero, leche materna o tejido graso), extraer los xenobióticos hormonales, testar su actividad hormonal en el bioensayo E-Screen e identificar y cuantificar los compuestos responsables de tal efecto hormonal (Rivas et al., 1997; Pazos et al., 1998; Rivas, 1999; Rivas et al., 2001, Fernández, 2001; Fernández et al., 2004)

La metodología analítica desarrollada permite, partiendo de muestras de tejido adiposo, separar por medio de técnicas cromatográficas los xenobióticos lipofílicos organohalogenados con actividad estrogénica (fracción α) de aquellos estrógenos naturales contenidos en muestras tejido adiposo humano (fracción β), si bien en esta última fracción también pueden estar presentes compuestos de síntesis no clorados (xenoestrógenos) como el bisfenol A. Esta metodología se hace indispensable para que las muestras puedan ser ensayadas en tests biológicos en los que los estrógenos naturales desencadenan los efectos específicos relacionados con su actividad, como es el estímulo de la proliferación celular. Para su utilización, el ensayo requiere que se obtengan muestras exentas de estrógenos endógenos que al ser evaluadas en el test biológico den una respuesta hormonal que pueda ser atribuida al contenido en xenoestrógenos, sin la interferencia de las hormonas naturales.

La utilización de las fracciones α y β del extracto de tejido adiposo en el ensayo E-Screen permite, por medio de diluciones sucesivas, estimar su efecto proliferativo y su equivalencia en concentración de hormona natural, es decir, de estradiol. Así pues, la técnica propuesta permite, para cada individuo estudiado, una estimación de la carga estrogénica en equivalentes de estradiol por peso de grasa, así como conocer la concentración de cada uno de los xenoestrógenos de interés (Rivas et al., 2001)

1.3.2 Plaguicidas organoclorados

Los plaguicidas son moléculas organocloradas muy diversas como los diclorodifeniletanos (*DDT, DDD, DDE, dicofol, metoxicloro*), ciclodienos (*clordano, oxiclordano, heptacloro, epoxido, aldrin, dieldrin y endosulfan*) hexaclorobenceno y hexaclorociclohexanos (Thomas et al., 1992)

También pueden adoptar estructuras químicas diferentes como, por ejemplo, la *vinclozolina* o 3 (3,5-diclorofenil)-5-metil-5-viniloxazolidin-2,4-diona, incluida desde el punto de vista químico dentro de las carboximidias.

Debido a la diversidad estructural, con frecuencia se clasifican los pesticidas atendiendo a algunas de sus cualidades derivadas de su comportamiento frente a organismos vivos, su vida media o su patrón de degradación medio ambiental. De esta manera, es frecuente que se agrupen en función de la persistencia en el medio ambiente, definida como el tiempo necesario para que un 75-100% del compuesto desaparezca del medio. La escala de persistencia distingue entre:

- 1.- Pesticidas no persistentes (de 1 a 12 semanas)
- 2.- Pesticidas moderadamente persistentes (de 1 a 18 meses)
- 3.- Pesticidas persistentes (de 2 a 5 años)

Los plaguicidas organoclorados se incluyen dentro de los compuestos químicos persistentes. Aunque inicialmente la persistencia de estos productos se consideró como una cualidad deseable para su empleo, ya que su efecto biocida duraba por más tiempo, pasado el tiempo se han puesto de manifiesto los inconvenientes de este comportamiento pues la alta lipofilidad junto con la estabilidad química magnifica los efectos biológicos indeseables (Dich et al., 1997)

La mayoría de los países industrializados han prohibido su utilización después de haberse revelado sus efectos adversos sobre la salud, sin embargo debido a su persistencia en los medios naturales y su lipofilidad, pueden encontrarse aún hoy en día, incluso en individuos no expuestos de forma directa.

DDT no es más que un ejemplo de una gran familia de pesticidas organoclorados que comparten como característica común su capacidad para mimetizar las hormonas naturales. En la literatura científica se pueden encontrar numerosos trabajos en los que se hace referencia al carácter estrogénico de plaguicidas organoclorados como el dicofol o keltano, dieldrin, aldrín, lindano, endrín, clordano, metoxicloro, heptacloro, y hexaclorociclohexano, así como otros con actividad fungicida como vinclozolina, maneb, zineb o mancozeb.

1.3.2.1. Hexaclorobenceno (HCB)

El HCB está distribuido ampliamente en el medioambiente y las dos fuentes principales son la agricultura y las industrias. Antiguamente fue utilizado como fungicida, pero en la actualidad la mayor fuente de HCB es la emisión industrial como producto relacionado con el uso de organoclorados en procesos de manufactura. Tiene una fuerte tendencia a acumularse en la cadena alimentaria y en los tejidos ricos en grasa en humanos y animales (To-Figueras et al., 1995)

El hexaclorobenceno (HCB), como el diclorodifenil dicloroetano (p, p´DDE) y los bifenilos policlorados (PCB), son compuestos organoclorados ubicuos en la naturaleza que se incorporan al organismo humano principalmente a través de la dieta (International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1993, International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1996). En la actualidad, la mayoría de estos compuestos están prohibidos, pero siguen presentes en todos los seres humanos debido a su uso en países del tercer mundo, a su lenta biodegradación y su formación actual como subproductos dentro de la síntesis de disolventes clorados y de otros compuestos organoclorados.

En 1994, un estudio realizado en la población de Flix (Ribera del Ebro, Tarragona) puso en evidencia que sus habitantes presentaban unas concentraciones séricas muy elevadas de HCB debido a la proximidad a una empresa electroquímica (Sala et al., 1999). Así mismo, se observó que los niños nacidos en dicha población entre 1997 y 1999 presentaban, ya en el momento de nacer, concentraciones muy elevadas de HCB, así como concentraciones en sangre detectables de PCB y de p, p´ DDE (Sala et al., 2001)

A pesar de que el grado de contaminación por HCB en esta población continúa siendo elevado, en un estudio publicado en 2003 se ha observado que éste ha sido el compuesto organoclorado que más ha disminuido en los últimos años. Esta disminución podría ser debida a las mejoras realizadas en los procesos de incineración en la empresa electroquímica (Ribas-Fitó et al., 2003)

Debido al posible impacto de los procesos ambientales sobre la salud humana, sería necesario esclarecer mediante más estudios cuáles son las concentraciones de estos compuestos en nuestra población. El Convenio de Estocolmo (Karlagnanis et al., 2001; Porta et al., 2002), cuya implementación está pendiente en muchos países, es una buena oportunidad para mejorar la información existente sobre las concentraciones de compuestos organoclorados y otros contaminantes orgánicos persistentes (Ribas-Fitó et al., 2001)

1.3.2.2. DDT y sus metabolitos

El DDT fue sintetizado por Zeidler a finales del siglo XIX, aunque fue Müller (Premio Nobel de Medicina 1948) el que descubrió su acción insecticida. Este hallazgo inició una revolución en el campo de los plaguicidas desencadenando la incorporación de productos derivados de síntesis orgánica a la lucha contra plagas y enfermedades.

Fue utilizado en EEUU por primera vez en 1943 como pesticida en campañas anti-malaria durante la II Guerra Mundial y fue extendiendo su uso en la vida civil a partir de 1945. El primer informe de DDT en la leche animal fue publicado en 1945, y el primer informe de DDT en grasa humana y leche materna apareció en 1948 y 1951. La restricción en la utilización de DDT no llegó hasta 1969, siete años después de la publicación de "Silent Spring" de Rachel Carson. En 1972 el Gobierno de US proscribió el uso doméstico de DDT. Sin embargo se sigue usando todavía en algunas regiones del mundo (Carson, 1962; Krieger et al., 1994). En India, Indonesia e Italia, DDT ha sido producido hasta 1990 y en Méjico DDT ha sido utilizado hasta 1997 para el control de la malaria (Turusov et al., 2002). Al ser el DDT un derivado clorado se abrió, a su vez, un camino de búsqueda de materias activas que contienen uno o más átomos de cloro en su estructura, desarrollándose así un conjunto de productos, cuya lista no está acabada, y que ocupan un lugar de importancia en el total de plaguicidas empleados (Barberá, 1989)

DDT es una molécula rígida y liposoluble con una su vida media de aproximadamente 100 años (Derache, 1990). DDT se acumula y se concentra, por lo que aún hoy en día se puede encontrar a lo largo de toda la cadena alimentaria. Posee una bajísima tensión de vapor (1.5×10^{-7} milímetros de Hg) y una volatilidad muy escasa, lo que unido a su poca sensibilidad a la luz ultravioleta explicaría su notable persistencia en el medio ambiente. Su uso está prohibido en la mayoría de los países industrializados aunque los países en desarrollo aún lo utilizan, principalmente para el control de la malaria. Estas indicaciones justifican por sí solas el hecho de que la producción mundial de DDT sea mayor en la actualidad que en pasado (Sharpe et al., 1995)

El DDT empleado en las formulaciones no corresponde a producto puro, se trata de una mezcla de isómeros entre los cuales el más abundante es *p, p'* DDT, que contribuye en un 80% aproximadamente; le sigue *o, p'* DDT en un 20%, aunque se pueden encontrar cantidades mínimas de otros isómeros (*p, p'* DDD, *p*-diclorobenceno y otras impurezas derivadas de su síntesis). Los orto-para isómeros son menos estables que las configuraciones para-para por lo que se encuentran en la naturaleza en concentraciones muy bajas.

En cuanto a su metabolismo encontramos diferencias dependiendo del organismo donde éste tenga lugar. Así, en los vertebrados, es común la presencia en orina y heces del producto de oxidación DDA; sin embargo para el hombre el DDT se almacena bajo la forma de DDE, un derivado etilénico del DDT. Un tercer camino de degradación del DDT, es la formación del derivado dicloro o DDD, también empleado como insecticida. Al *p, p'* DDE, se le ha atribuido actividad estrogénica (Soto et al., 1995; Ren et al., 1996), así como, propiedades antiandrogénicas al competir con la dihidrotestosterona por su enlace al receptor (Kelce et al., 1995). El componente con mayor capacidad estrogénica es el *o, p'* DDT (15-23% del peso de DDT), que como se ha indicado se degrada a DDE, el metabolito más abundante y persistente en el medioambiente (IARC., 1991). Tanto la potencia estrogénica del DDT como la de sus metabolitos se ha evaluado mediante pruebas in vivo e in vitro.

Test in vivo: utilizan como medida la ganancia de peso del útero de roedores inmaduros o bien ovariectomizados (Welch et al., 1969; Gellert, 1972):

- o, p´ DDT: Respuesta estrogénica fuerte
- p, p´ DDT: Débil respuesta
- p, p´ DDE: Pobre o sin respuesta

DDT y o, p´ DDT pueden mantener el crecimiento de tumores de mama malignos estrógeno-dependientes en la rata. Pero p, p´DDE es incapaz de producir dicho efecto.

Test in vitro: Test de estrogenicidad E-Screen que utiliza la capacidad de inducir proliferación celular en la línea de células de cáncer de mama MCF-7, en donde la potencia relativa del estradiol es de 1. Comparados con el estradiol (Soto et al., 1995; Andersen et al., 1999; Chang et al., 2002):

- o, p´ DDT y p, p´ DDT tiene una potencia de 1×10^{-6} a 5×10^{-8}
- p, p´ DDE tiene una potencia de 1×10^{-7} a 5×10^{-9}

De la misma manera o, p´DDT inhibe el receptor de estradiol en el roedor y el receptor estrogénico recombinante en el humano. A su vez, p, p´ DDT muestra una menor respuesta y p, p´ DDE pobre o ninguna (Welch et al., 1969; Bulger et al., 1996; Andersen et al., 1999)

Algunos animales y peces metabolizan rápidamente el DDT a p, p´ DDE y los seres humanos pueden consumir, preformado, el p, p´DDE en la dieta y acumularse en el tejido adiposo. Sin embargo, estudios realizados en hombres voluntarios sanos muestran poca capacidad de metabolizar DDT en DDE (Morgan DP et al., 1971). La mayor parte de p, p´ DDE acumulado en tejido adiposo humano proviene de la ingesta de p, p´ DDE preformado más que de la transformación de DDT a p, p´ DDE (Morgan et al., 1971)

1.3.2.3. Dieldrín, Aldrín y Endrín

Dieldrín es un pesticida organoclorado utilizado en los EEUU desde los años 50 hasta la mitad de los 70 contra los insectos para proteger las cosechas. Su uso fue prohibido por la Agencia de Protección del Medioambiente Americana en 1987 (U.S. Environmental Protection Agency, EPA). Aldrín es estructuralmente parecido a dieldrín y con usos similares, que puede degradarse a dieldrín. Todas sus aplicaciones fueron también prohibidas en 1987 Agencia de Protección del Medioambiente Americana (U.S. Environmental Protection Agency, EPA)

Como demuestran Hoyer y colaboradores, la concentración sérica de dieldrin está asociada a un incremento significativo en el riesgo de cáncer de mama (OR: 2,05; IC 95%: 1,17-3,57, $p=0,01$) (Hoyer et al., 1998; Hoyer et al., 2000^b). En un estudio posterior también observan que existe asociación entre los niveles séricos de dieldrín y la supervivencia, de manera que altos niveles de dieldrín en sangre se relacionan con un mayor riesgo de muerte en relación con niveles bajos (Hoyer et al., 2000^a)

Sin embargo, estos resultados no son corroborados en un segundo estudio llevado a cabo en la misma población y por los mismos autores (Hoyer et al., 2001), ni tampoco en otros tres estudios: uno llevado a cabo en Noruega por Ward y colaboradores y dos realizados en Estados Unidos por Dorgan y colaboradores y Gammon y colaboradores (Dorgan et al., 1999; Ward et al., 2000; Gammon et al., 2002)

1.3.2.4. Metoxicloro

El Metoxicloro es otro pesticida organoclorado de interés en este trabajo que tiene un espectro de toxicidad para los insectos más limitado que el DDT y presenta la ventaja de ser menos tóxico para los mamíferos. El metoxicloro ha demostrado ser útil para el control de las plagas domésticas, tales como mosquitos, moscas y polillas, las plagas del ganado como moscas y piojos, el escarabajo mejicano de las judías, y una gran variedad de insectos que atacan las frutas, verduras y cosechas de forraje.

Una ventaja adicional del empleo del metoxicloro sobre otros pesticidas es su más rápido metabolismo y mayor biodegradabilidad en los organismos animales. En el caso concreto de los animales de sangre caliente, el metoxicloro

se detoxifica por desmetilación, lo cual parece contribuir a la reducción de los efectos crónicos inducidos por éste, respecto de los observados para otros hidrocarburos clorados.

El metoxicloro presenta actividad proestrogénica, es decir, necesita ser activado *in vivo* o alternativamente *in vitro* usando microsomas hepáticos (Stresser et al., 1998) para la génesis del metabolito activo. Su actividad hormonal estrogénica ha sido demostrada *in vivo* e *in vitro* (Bulger et al., 1978; Cummings y Metcalf, 1994, 1995; vom Saal et al., 1995). Cuando se administra *in vivo* produce efectos adversos sobre la fertilidad y sobre la actividad uterina en hembras (Ousterhout et al., 1981). También se han descrito efectos adversos en animales machos (alteración del comportamiento sexual) expuestos intraútero (Cummings, 1997)

Debido a que no está completamente determinado si los efectos en la función reproductora del metoxicloro se relacionan a una acción agonista o antagonista hormonal, Hall y colaboradores (1997) estudiaron los efectos de este pesticida sobre la implantación y el desarrollo del embrión en ratones y llegaron a la conclusión de que el metoxicloro actúa como agonista estrogénico a nivel del útero y oviducto pero presenta una acción antiestrogénica en el ovario (Hall et al., 1997) Por otra parte, parece que el metoxicloro altera la preimplantación normal, por lo que se sugiere la necesidad de más estudios para conocer su mecanismo de acción.

1.3.2.5. Endosulfán

El Endosulfán es el pesticida organoclorado que ocupa, hoy en día, el primer lugar en consumo en los países industrializados. A diferencia de otros organoclorados “históricos” su uso es frecuente y su empleo en áreas agricultura intensiva en la península Ibérica es una práctica habitual (Olea et al., 1996; Olea et al., 1999; Cerrillo et al., 2004)

En 1994 Soto y colaboradores presentaron el primer informe sobre la estrogenicidad del endosulfán al demostrar que éste ejercía un efecto proliferativo sobre células de cáncer de mama mantenidas en cultivo, y que este efecto era comparable al inducido por el estradiol, estrógeno natural. Informes posteriores han confirmado esta observación por lo que endosulfán se clasifica hoy entre los pesticidas estrogénicos con capacidad disruptora endocrina (Soto

et al., 1995; Vornier et al., 1996; Jin et al., 1997; Andersen y et al., 1999)

El consumo de cantidades importantes de endosulfán en el medio agrícola ha provocado que su presencia ambiental sea cada vez más frecuente. En aquellos trabajos en los que se ha buscado expresamente la persistencia de endosulfán como contaminante de alimentos, aguas, aire o suelos, se ha puesto de manifiesto que hoy día ocupa uno de los primeros lugares en cuanto a concentración y porcentaje de muestras positivas, en muchos casos comparable a la positividad del DDT y sus metabolitos.

De hecho los informes científicos sobre la presencia de este pesticida en ambiente son un tanto preocupantes. Por ejemplo, endosulfán es el pesticida más frecuentemente encontrado en el análisis de aguas superficiales realizado en Almería (Fernández Alba et al., 1998) y en la Comunidad Valenciana (Hernández et al., 1996). En el primero de los casos, los estudios de vigilancia llevados a cabo en tierras almerienses durante un año sirvieron para demostrar la presencia y cuantificar la concentración ambiental del endosulfán alfa, beta y sulfato que se mueve en el rango de 0.5-540 ng/l (Penuela et al., 1998). Estos datos parecen confirmar la ubicuidad del pesticida previamente denunciada por Seba y Snedeker (1995) que refieren a endosulfán como el pesticida más frecuentemente encontrado en la capa superficial de las aguas marítimas (Seba et al., 1995)

Desde el punto de vista de la exposición humana, tanto con carácter laboral como ambiental, es cada vez más frecuente encontrar al pesticida endosulfán en las listas de organoclorados incluidos en las muestras. Trabajos recientes han establecido las curvas de disipación del endosulfán alfa, beta y sulfato en el aire de los invernaderos (Vidal et al., 1996)

Los estudios de exposición a pesticidas en el área de agricultura intensiva almeriense no son nuevos y se mueven entre la medida de la excreción de los compuestos químicos y sus metabolitos y la estimación de los cambios clínicos y bioquímicos objetivados (Parrón et al., 1996). La exposición de la población general establecida en áreas eminentemente agrícolas ha sido también documentada (Rivas et al., 1998; Olea et al., 1999; Cerrillo et al., 2004)

Por ejemplo, en la población infantil de Murcia y Granada se encontró el residuo de endosulfán y algunos metabolitos en el 40% y 30% de las muestras de grasa analizadas, respectivamente. Es sorprendente, por otra parte, que al residuo de este pesticida le acompañan otros de compuestos químicos cuyo uso fue prohibido hace décadas. La persistencia ambiental de esos organoclorados y la exposición materno-infantil pudiera ser una explicación aceptable para la misma.

Trabajos muy recientes han llamado la atención sobre los riesgos para la salud infantil derivados de la exposición intrauterina y durante los primeros meses de la vida, fundamentalmente a través de la lactancia, de niños nacidos de madres profesionalmente expuestas. Las sospechas de una distribución geográfica de una típica alteración del desarrollo genitourinario conocida como criptorquidia o no-descenso testicular denunciada por García Rodríguez y colaboradores, en 1996, han sido robustecidas por los trabajos de Weidner y colaboradores y García y colaboradores (Weidner et al., 1998; García et al., 1999)

Si en el primero de los casos se denunciaba el riesgo de padecimiento de la enfermedad en niños nacidos en áreas de gran empleo de pesticidas, cuando se comparaba con municipios con un consumo significativamente menor, el trabajo de Weidner asociaba la actividad laboral materna con el riesgo de dar a luz un hijo sin descenso testicular. El trabajo de García y colaboradores, por último, ha servido para asociar la exposición agrícola de las madres durante el mes previo a la concepción y los tres primeros meses de embarazo con el mayor riesgo de malformaciones congénitas en los recién nacidos (García et al., 1999)

En lo que respecta a los adultos, las fuentes de exposición de la población agrícola general al organoclorado endosulfán pueden ser variadas. Como se ha dicho, existe, de una parte el contacto directo y la inhalación por aquellos individuos total o parcialmente expuestos. De otra, la contaminación de ropas y utensilios empleados durante los tratamientos agrícolas que son llevados a la residencia del trabajador. Importante también es la exposición alimentaria a través del residuo del pesticida y la contaminación de las aguas de bebida.

Por estas razones ha merecido la atención durante estos últimos años el estudio de la exposición alimentaria al endosulfán. En Aragón se realizó un estudio con objeto de determinar el residuo de 21 organoclorados en la dieta, encontrándose que HCB, Lindano, DDT y sus metabolitos y beta endosulfán eran los contaminantes habituales (Lázaro et al., 1996)

Muestras de sangre y tejido adiposo humano, tomados de individuos provenientes de áreas donde se ha desarrollado la agricultura intensiva, han sido motivo de estudio con objeto de investigar la impregnación interna de la población con el residuo de diversos pesticidas y el riesgo de padecimiento de cáncer de mama (Rivas y et al., 1998). La presencia de o, p´DDT, p, p´DDT, DDE, endosulfán, clordano y metoxicloro fue confirmada en aquellas muestras en que se determinó un exceso de actividad hormonal de carácter estrogénico (Fernández et al., 2004). Precisamente es esta estimación de la carga hormonal exógena el factor que con mayor fiabilidad identifica el riesgo de padecimiento de la enfermedad tumoral mamaria (Ibarluzea et al., 2004)

Pero aún así, el caso de endosulfán es un buen ejemplo de la lentitud, por parte de la Administración, científicos y productores, en dar una respuesta a un problema anunciado. Ha costado años de seguimiento y esfuerzo de diversos grupos de trabajo interesados en una particular forma de toxicidad crónica, el acumular la evidencia necesaria para que endosulfán sea considerado un pesticida organoclorado, xenobiótico estrogénico y con una presencia ambiental tremendamente importante (Olea et al., 1996; Olea et al., 1997; Olea et al., 1999). Tal evidencia es difícil de conseguir, máxime cuando los ejemplos nos advierten el efecto tardío, dilatado en el tiempo. En casos como éste, más que nunca, el principio de precaución debería ser una premisa de decisión en la mente de todos.

1.4. DIFERENCIAS ENTRE LOS NIVELES DE PESTICIDAS EN TEJIDO ADIPOSEO MAMARIO Y TEJIDO ADIPOSEO ABDOMINAL

Los estudios epidemiológicos encaminados a demostrar la relación existente entre niveles de pesticidas y el cáncer de mama han utilizado distintas muestras biológicas para realizar sus mediciones. Se han utilizado plasma (Hunter et al., 1997; Lagueux et al., 1999; Millikan et al., 2000; Demers et al., 2000) , suero (Wolff et al., 1993 y 2000; Krieger et al., 1994; López-Carrillo et al., 1997; Moysich et al., 1998; Hoyer et al., 1998; Mendonça et al., 1999; Helzlsouer et al., 1999; Dorgan et al., 1999; Zheng et al., 2000; Romieu et al., 2000; Ward et al., 2000; Charlier et al., 2003) y tejido adiposo (Unger et al., 1984; Mussalo-Rauhamaa et al., 1990; Dewailly et al., 1994; Hardell et al., 1996; van 't Veer et al., 1997; Liljegren et al., 1998; Guttes et al., 1998; Zheg et al., 1999(a); Zheng et al., 1999(b); Zheng et al., 1999(c); Zheng et al., 2000; Aronson et al., 2000; Stellman et al., 2000)

Hay que tener en cuenta que la selección de las metodologías analíticas en todos estos estudios puede afectar a la precisión y exactitud de las mediciones llevadas a cabo en las muestras biológicas empleadas. Así mismo, las mediciones complementarias del contenido lipídico y el uso de éste para expresar los niveles de pesticidas, pueden cambiar los resultados obtenidos en los trabajos mencionados. Además hay que tener presente que los lípidos circulantes influyen en los niveles de compuestos organoclorados como es el caso del DDT y sus metabolitos (Phillips et al., 1989)

La muestra de sangre es más fácil de obtener que la de tejido adiposo. Además como el método para obtener muestras de tejido adiposo es invasivo, se limita la facilidad de reclutamiento de la población control y es por esto por lo que los estudios casos-control utilizan con frecuencia muestras de tejido adiposo mamario, de mujeres sometidas a intervenciones sobre la glándula mamaria por lesiones benignas (Snedeker et al., 2001). Sin embargo, mientras la medición en tejido adiposo de los niveles de pesticidas organoclorados da una idea precisa de la presencia de estas moléculas liposolubles, las mediciones en sangre total, plasma o suero pueden fluctuar con los cambios en los lípidos sanguíneos y afectar a los resultados finales en la relación entre los residuos organoclorados y el cáncer de mama. Los principales responsables de estas fluctuaciones son los mecanismos de transporte y distribución de esas moléculas en los distintos

componentes sanguíneos de acuerdo con su relativa solubilidad. Así por ejemplo, menos del 18% de DDE o DDT y más del 40% de dieldrín están distribuidos en los eritrocitos reflejando la distinta permeabilidad de la membrana celular a los compuestos (Morgan et al., 1972). Debido a las diferencias existentes entre los individuos y a las diferencias en los propios individuos en cuanto a la absorción, distribución, metabolismo y eliminación de los contaminantes, los coeficientes de distribución también tienen una gama muy amplia. Esto hace que, comparar la concentración de pesticidas organoclorados en sangre y tejido adiposo, sea problemático, incluso cuando las concentraciones se hayan ajustado por el contenido lipídico.

Habitualmente el contenido lipídico de la sangre se estima mediante métodos gravimétricos o enzimáticos (Akins et al., 1989; Phillips et al., 1989). Varios estudios han analizado la correlación entre la concentración de pesticidas organoclorados en tejido adiposo y suero, plasma o sangre total con un pobre consenso (Needham et al. 1990; Mussalo-Rauhamaa et al., 1991; Archibeque-Engle et al., 1997; López-Carrillo et al., 1999; Pauwels et al., 2000)

Además los mecanismos fisiológicos, añadidos a errores en el método analítico, aumentan la discrepancia entre la cuantificación de los pesticidas en tejido adiposo y la cuantificación en sangre. Puede existir menos variación en la distribución de los residuos organoclorados entre tejido adiposo de distintas localizaciones, pero hay pocos datos al respecto en la literatura científica. El conocimiento actual está limitado por el número de pacientes con cuantificación de pesticidas organoclorados en más de un tejido y por la baja carga corporal de pesticidas que hacen que se incremente el error analítico. Hay muy pocos estudios que se ocupen de analizar la distribución de los pesticidas en varios tipos de tejido adiposo. En un interesante estudio publicado a principios del año 2004 por Petreas y colaboradores se concluye que la medición de la mayor parte de los contaminantes en tejido adiposo abdominal y tejido adiposo mamario, está altamente correlacionada y que, además, la cuantificación de los niveles de pesticidas en uno de los tejidos puede ser estimada por la concentración de esos mismos pesticidas en el otro tejido (Petreas et al., 2004). Añaden estos autores que tanto tejido adiposo mamario como tejido adiposo abdominal podrían ser utilizados para cuantificar la mayoría de contaminantes persistentes liposolubles, facilitando así, nuevos estudios epidemiológicos (Petreas et al., 2004)

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

La información epidemiológica disponible sobre la asociación entre exposición a sustancias químicas, contaminantes medioambientales capaces de alterar el balance hormonal y su efecto sobre salud humana, no es muy abundante y rara vez emana de trabajos desarrollados con este objetivo concreto. En muchas ocasiones se trata de derivaciones y aproximaciones a través de las cuales los estudios son planteados para dar respuesta a la contribución de uno o unos pocos contaminantes medioambientales, generalmente pesticidas de uso agrícola, o actividades profesionales ligadas a una mayor exposición química, sobre el riesgo de enfermedad. Una de las grandes dificultades de este tipo de trabajos es la caracterización de la exposición, que se ha hecho de formas muy variopintas, que van desde la cuantificación de algún residuo particular en una muestra biológica, a la encuesta epidemiológica y el cuestionario orientado en el que se trata de tipificar exposición y momento en que ha ocurrido.

Tan sólo en unas pocas ocasiones se ha abordado el tema de exposición ambiental de forma holística, considerando no sólo factores concurrentes que pueden condicionarla, sino también aproximaciones novedosas en las que la exposición es cuantificada a través de marcadores de carga total de compuestos que actuando a través de mecanismos comunes resultan en un efecto biológico final, consecuencia de la mezcla de elementos y la competencia que se establece entre si y con los compuestos endógenos de similar vía de actuación. Los antecedentes de éxito con esta aproximación en cuadros tan complejos como es la etiología de cáncer de mama (Ibarluzea, 2004), nos animaron a trasladar esa misma aproximación conceptual a este trabajo en el que la estimación exposición se hace de forma concurrente en tejido adiposo de diferente localización orgánica y se completa con la medida del residuo químico en sangre.

Los objetivos planteados al iniciar este trabajo son los siguientes:

1. Diseñar un protocolo de evaluación de la exposición a compuestos químicos, contaminantes medioambientales, con actividad hormonal estrogénica, útil para la caracterización expositiva de las enfermas afectas de cáncer de mama.
2. Investigar el efecto que sobre la medida de exposición tienen:
 - 2.1.- La elección del sustrato para estimar la exposición, ya sea sangre o tejido adiposo.
 - 2.2- El instrumento de medida de la exposición, ya sea la cuantificación química del residuo o biológica de la carga estrogénica total efectiva.
 - 2.3.- El tratamiento antineoplásico al que es sometida la paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. POBLACIÓN DE ESTUDIO

En Septiembre de 2001 se inició un estudio de seguimiento de base hospitalaria que tenía como propósito analizar la relación entre xenoestrógenos contenidos en tejido adiposo (ya fuera mamario o abdominal), en suero, y las características del tumor mamario y su evolución clínica. Además se pretendía determinar si existía relación entre el cambio cuantitativo de los niveles de algunos pesticidas organoclorados en el tejido adiposo, evaluando grasa mamaria y abdominal y suero de dichas mujeres y el tratamiento indicado.

Las pacientes participantes en el estudio fueron diagnosticadas y tratadas por los Servicios de Cirugía General y Aparato Digestivo y Oncología del Hospital Clínico Universitario de Granada. Se reclutaron 35 pacientes diagnosticadas en la consulta de Cirugía, Unidad de Patología Mamaria, de sospecha de cáncer de mama, que se confirmó en todos los casos como carcinoma ductal infiltrante de mama. Las edades estaban comprendidas entre los 40 y 79 años. Fueron excluidas aquellas pacientes en las que sus antecedentes personales no hicieran posible un seguimiento y la toma repetida de muestras de grasa abdominal.

Las fuentes de información para la realización del estudio son:

- la historia clínica
- la entrevista, que aporta información sobre características sociodemográficas y factores de riesgo para cáncer de mama, y que sigue un cuestionario preparado a este efecto y previamente validado
- las hojas de resultados de los análisis químicos y ensayo biológico de las muestras de tejido adiposo y las hojas de análisis bioquímico de la masa tumoral

En los siguientes apartados de este capítulo se describen cada uno de estas fuentes de información, sus características y la organización y coordinación de los mismos.

3.1.1 Información y consentimiento de la paciente

Las pacientes fueron informadas de los objetivos y procedimiento del estudio, solicitando su participación. La inclusión en el estudio implicaba responder al cuestionario, permitir que se obtuvieran los datos necesarios de su historia clínica y acceder a que en la intervención quirúrgica se le tomaran muestras de sangre y tejido adiposo mamario para el estudio y posteriormente a los 3 meses se obtuvieran muestras de sangre y tejido adiposo abdominal. Si la paciente no quería colaborar se rellenaba la hoja de no respuesta, incluida en la misma encuesta. Si la paciente daba su consentimiento, se iniciaba la cumplimentación de la historia clínica y tras la cita con el encuestador, se realizaba la encuesta durante la estancia de la paciente en el hospital. Además, el día propuesto para la intervención quirúrgica se coordinaba en quirófano la toma de muestra sanguínea así como la muestra de tejido adiposo mamario y su envío inmediato al Laboratorio de Investigaciones Médicas del Hospital Clínico de Granada.

3.1.2 Información recogida a través de encuesta e historia clínica

Una vez que las mujeres daban su consentimiento se realizaba durante su estancia en el hospital una entrevista personal estructurada y un resumen de historia clínica que se completa en el seguimiento de la paciente y que incluye los siguientes apartados:

1. Hoja de no respuesta:

- identificación
- municipios de residencia y duración de la residencia por municipio
- estado civil
- escolaridad
- ocupación

2. Características sociodemográficas:

- identificación
- edad
- lugares de residencia, duración y carácter rural/urbano
- estado civil

- grado de escolaridad
 - actividad laboral actual
 - ocupación (propia o la del cabeza de familia en el caso de las amas de casa, estudiantes o paradas buscando su primer empleo)
 - exposición ocupacional propia en: agricultura, industria nuclear, peluquería, esteticien o industria textil, y duración.
3. Características antropométricas:
- peso (kg)
 - altura (cm)
 - evolución del peso
4. Historia reproductiva:
- edad de menarquia
 - edad de menopausia
 - regularidad y duración del ciclo menstrual
 - embarazos, número, edad al primero y al último hijo a término
 - número de hijos nacidos vivos, muertos y abortos
 - lactancia total (meses)
5. Intervenciones quirúrgicas previas:
- histerectomía
 - ooforectomía
6. Anticoncepción y terapia hormonal sustitutiva:
- utilización de anticonceptivos orales y no orales, edad de inicio y duración
 - utilización de tratamiento hormonal sustitutivo, edad de inicio y duración
7. Aspectos relacionados con la nutrición:
- frecuencia semanal con la que come pescado y tipo
 - frecuencia semanal con la que consume leche, productos lácteos y contenido graso o tipo

- frecuencia semanal con la que come carne y tipo
 - frecuencia semanal con la que come verduras, ensaladas y frutas
 - frecuencia semanal con la que come huevos
 - descripción del desayuno habitual
 - variación de la dieta en el último año
8. Consumo de fármacos
9. Consumo de tabaco y alcohol
- hábito de fumar
 - edad de inicio y finalización del hábito tabáquico,
 - número de cigarrillos consumidos diariamente
 - consumo de alcohol
 - edad de inicio y finalización del consumo habitual de alcohol
 - frecuencia de consumo de bebidas alcohólicas
10. Historia familiar de cáncer de mama
- parientes en primer grado con tumor benigno o cáncer de mama
11. Historia clínica (información recogida con posterioridad)
- número de historia clínica
 - antecedentes personales de patología mamaria benigna
 - antecedentes personales de patología mamaria maligna
 - antecedentes personales de cáncer
 - antecedentes familiares de cáncer de mama
 - antecedentes familiares de patología mamaria benigna
 - antecedentes familiares de cáncer
 - tipo de carcinoma (todos ductal infiltrante):
 - Uni o Bilateral
 - Diagnóstico Histopatológico (TNM)
 - Grado Histológico
 - Tratamiento quirúrgico recibido
 - Fecha de intervención
 - Quimioterapia preoperatoria:
 - Tipo de quimioterapia

- Número de ciclos
- Quimioterapia postoperatoria:
 - Tipo de quimioterapia
 - Número de ciclos
- Radioterapia:
 - Dosis
 - Sobreimpresión
 - Días de radioterapia
- Recidiva tumoral
- Factores inmunohistoquímicos con valor pronóstico:
 - Receptor estrogénico
 - Receptor de progesterona
 - Oncogenes: Cerb B2
 - Marcadores de proliferación celular: Ki-67
 - Proteínas reguladoras del ciclo celular y de la apoptosis: p53
- Hormonoterapia
- Talla(cm)
- Peso(Kg), IMC (Kg/m²) y superficie corporal (m²) al inicio y a los 3 meses.
- Marcadores tumorales (al inicio y a los 3 meses):
 - Ca 15.3
 - Ca 549
- Metástasis
- Observaciones

12. Observaciones

3.2 METODOLOGÍA QUÍMICO-ANALÍTICA Y BIOLÓGICA

3.2.1. Obtención de las muestras biológicas

Las muestras de tejido adiposo mamario de las pacientes fueron obtenidas durante el acto operatorio en quirófano. Se tomaron aproximadamente 2 gramos de tejido graso mamario de la pieza quirúrgica, los cuales fueron depositados en tubos de vidrio, identificados, trasladados al Laboratorio de Investigaciones Médicas y congelados a -80° C en los 30 primeros minutos desde su obtención. Las muestras se obtuvieron antes del inicio del tratamiento de quimioterapia o radioterapia, salvo para las pacientes que tuvieron tratamiento neoadyuvante con quimioterapia, en cuyo caso las muestras se obtuvieron con posterioridad al mismo.

Antes de comenzar la intervención, en el antequirófano, se obtenían las muestras de sangre mediante venopunción. Se depositaban en tubos de vidrio sin ninguna sustancia añadida. El suero se separaba de las células por centrifugación, se dividía en 4 ml alícuotas, se identificaba y se almacenaba a -80° C para su posterior análisis.

Posteriormente, las pacientes eran citadas a los 3 meses de la intervención quirúrgica para nueva extracción de sangre y la obtención de la muestra de tejido adiposo abdominal. Esta cita coincidía con la administración del tercer ciclo de quimioterapia para las 18 pacientes que recibieron 6 ciclos de quimioterapia postoperatoria (FEC, CMF y FAC). Coincidía, así mismo, con el cuarto ciclo de FEC para las tres pacientes que recibieron FEC más TAXOL. Sin embargo, las 7 mujeres que recibieron quimioterapia preoperatoria completada con varios ciclos en el postoperatorio habían concluido el tratamiento con estos fármacos cuando se les tomó la muestra de grasa abdominal. El procedimiento para la extracción sanguínea no varió respecto al llevado a cabo en el momento de la intervención. Para la obtención de la muestra de tejido adiposo abdominal se tuvo en cuenta el siguiente protocolo:

- 1.- Comprobación del estado inmunológico y de coagulación de la paciente.
- 2.- Comprobación de las posibles alergias medicamentosas.
- 3.- Posición decúbito supino.
- 4.- Lugar de la extracción: fosa iliaca derecha
- 5.- Aplicación de polividona yodada en el lugar de la intervención.

- 6.- Administración de 10 ml de clorhidrato de mepivacaina sin vasoconstrictor al 2% (200 mg).
- 7.- Incisión cutánea de 0,5 cm
- 8.- Mediante jeringas de 50 ml conectadas a cánulas de liposucción y haciendo el vacío de forma manual se realiza la aspiración de 2 gramos de tejido graso abdominal.
- 9.- Las muestras eran depositadas en tubos de vidrio, identificadas y congeladas a -80°C .

3.2.2. Determinación y cuantificación de xenoestrógenos

El equipo, los reactivos y los pasos que se describen a continuación incluyen los procedimientos para la extracción, purificación, identificación y confirmación de los xenoestrógenos, pesticidas organoclorados y de la determinación lipídica. Las muestras biológicas se han guardado congeladas a -80°C antes de su procesamiento.

3.2.2.1. Equipo:

- Cromatógrafo líquido de alta resolución Watters modelo 501 Millipore:
 - Detectores UV-visible Watters modelo 490 Millipore: longitud de onda 280 nm, sensibilidad o rango (AUFs): 0,1; tiempo de salida (sec): 0,3.
 - La fase móvil está constituida por dos fases: Fase A: n-hexano; Fase B: n-hexano-metanol-isopropanol (40:45:15 v/v/v). El programa de gradiente está basado en el método de Medina (Medina et al., 1986) con algunas modificaciones.
 - Volumen de inyección y loop: 500 μl
 - Procesador de datos: Millennium Chromatography Manager Software
- Cromatógrafo de gases y detector de captura de electrones (GC/ECD): Modelo Varian-3350 (Walnut Creek, CA) con detector de captura de electrones (^{63}Ni). Procesador de datos: Millennium Chromatography Manager Software. Se usa una columna CP SIL8 CB (30 m x 0.25mm).

- Cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS): Equipo Saturn 2000 Varian (Walnut Creek, CA) con inyector Varian 1177 y CP5860 WCOT Fused silica column (30 m x 0.25 mm).
- Columna de vidrio para cromatografía Pyrex de 6 mm de diámetro interno.
- Sep-Pak Cartridge Part N° WATO51900 (Waters, Milford, Massachusetts USA).
- Vortex mixer
- Rotavapor Büchi R-300 (Büchi, Italy).
- Titertek Multiscan (Flow, Irvine, CA).
- Filtro 0.22 mm (Millipore Corporation, Bedford, MA).

3.2.2.2. Reactivos y compuestos químicos:

- Metanol (Panreac, Barcelona, Spain).
- Isopropanol (Panreac).
- Hexano (Panreac).
- Etanol (Panreac).
- Cloroformo (Panreac).
- Ácido clorhídrico (Panreac).
- Alumina 90 (70-230 mesh) n° 1097 (Merck, Darmstadt, Germany).
- Aldrin (Sulpeco, Bellefonte, PA).
- Dieldrin (Sulpeco).
- Endrin (Sulpeco).
- Lindano (Sulpeco).
- Metoxicloro (Sulpeco).
- Endosulfan I (Sulpeco).
- Endosulfan II (Sulpeco).
- Mirex (Sulpeco).
- p, p' DDT (Sulpeco).
- o, p' DDT (Sulpeco).
- o, p' DDD (Dr Ehrenstorfer Lab, Augsburg, Germany).
- Hexachlorobenzeno (HCB) (Dr Ehrenstorfer Lab).
- Vinclozolina (Dr Ehrenstorfer Lab).
- p, p' dichlorobenzophenone (Dr Ehrenstorfer Lab).
- p, p' DDE (Chem Service, West Chester, PA).

- Endosulfan diol (Hoechst Schering AgrEvo, Frankfurt, Germany).
- Endosulfan sulfato (Hoechst Schering AgrEvo).
- Endosulfan lactona (Hoechst Schering AgrEvo).
- Endosulfan ether (Hoechst Schering AgrEvo).
- 17 β estradiol (E2) (Sigma).
- 17 β ethynylestradiol (Sigma).
- Progesterona (Sigma).
- Testosterona (Sigma).
- Nonylphenol (Sigma).
- Bisphenol A (Sigma).
- Genistein (Sigma).
- Ácido acético (Panreac).

3.2.3. Métodos para el análisis químico

3.2.3.1. Extracción y purificación de los xenoestrógenos de las muestras de tejido adiposo

Existen distintos procedimientos no destructivos de purificación. De todos ellos, el más utilizado habitualmente, se basa en la separación por cromatografía de adsorción en columna, utilizando distintos adsorbentes (alúmina, carbón activado, sílica gel, sephadex, etc., o mezcla de ellos) y eluientes como éter de petróleo, etílico, hexano y otros. Esta metodología permite eliminar prácticamente la totalidad de las sustancias interferentes, las cuales quedan retenidas en el adsorbente, debido a la diferencia de polaridad que hay entre ellas y el disolvente de elución empleado. Para la extracción de los xenoestrógenos a partir de muestras de grasa, se ha desarrollado una metodología basada en el método descrito en 1984 por Okond'ahoka y colaboradores, con ligeras modificaciones que se puede describir en los siguientes pasos (Okond'ahoka et al., 1984):

- 1.- La alúmina Merck 90 n^o 1097 usada en la extracción se deseca previamente a 600°C durante 4 horas.
- 2.- Se pesan 2 g de alúmina y se ajusta a un grado de hidratación del 5%.

- 3.- Se rellena una columna de vidrio para cromatografía Pyrex de 6 mm de diámetro interno con la alúmina hidratada y se equilibra con hexano como eluyente.
- 4.- Se pesan 0,2 g de tejido adiposo y se homogenizan en un homogenizador de tejidos de pistón con 2 ml de hexano.
- 5.- Se vierte el extracto orgánico sobre la parte superior de la columna de cromatografía de vidrio Pyrex, lentamente.
- 6.- Se añaden 20 ml de hexano a través de la columna y el eluido se recoge en un matraz de fondo redondo de 50 ml.
- 7.- El eluido se concentra en un rotavapor hasta un volumen de 1 ml para a continuación desecarse en corriente de N₂.
- 8.- El residuo seco se solubiliza en 400 µl de hexano y se purifica mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) preparativa.

3.2.3.2. Extracción y purificación de los xenoestrógenos de las muestras de suero

- 1.- Se incuba una alícuota de 4 ml de suero con 2 ml de metanol en un tubo de vidrio y se agita la mezcla vigorosamente.
- 2.- Se añaden 5 ml de éter etílico y hexano (v:v) en el mismo tubo, se centrifuga durante 10 minutos y se recoge la fase orgánica en otro tubo.
- 3.- El paso 2 se repite tres veces.
- 4.- La fase orgánica se concentra bajo una corriente de N₂ hasta un volumen de 1 ml.
- 5.- Se añaden al residuo 0,5 ml de H₂SO₄ y 1 ml de hexano, se centrifuga y se recoge la fase orgánica.
- 6.- Se añade 1 ml de hexano dos veces, se centrifuga y se recoge la fase orgánica.
- 7.- La fase orgánica se concentra bajo una corriente de N₂, hasta desecarla totalmente.

Los extractos orgánicos son purificados utilizando sílice Sep-Pak. El extracto de suero es desecado en un tubo.

3.2.3.3. Cromatografía líquida de alta resolución preparativa (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución preparativa (HPLC) es un método utilizado para separar los xenoestrógenos de los estrógenos naturales sin destruirlos. De acuerdo con los trabajos precedentes de nuestro grupo de investigación, hemos desarrollado un método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) preparativa eficaz para la separación de moléculas organocloradas con actividad estrogénica de compuestos hidrosolubles tales como las hormonas naturales y aditivos y monómeros de plásticos como los bifenoles y alquilfenoles, que nos ha permitido diferenciar la actividad hormonal de diferentes compuestos presentes en la misma muestra (Brotons Oliver, 1994; Valenzuela Torres, 1996; Rivas et al., 2001). Como se ha comentado anteriormente, se ha utilizado el cromatógrafo líquido de alta resolución Watters modelo 501 Millipore.

Este método presenta ciertas ventajas en relación a los procedimientos convencionales como son la mayor rapidez, mejor eficacia y precisión, capacidad para monitorizar las condiciones cromatográficas y la posibilidad de automatizar los análisis, entre otros. El método puede ser aplicado, igualmente, a una gran variedad de muestras medioambientales (Brotons Oliver, 1994; Valenzuela Torres, 1996). Lo esencial del mismo consiste en la inyección en el cromatógrafo líquido de 500 μ l del extracto obtenido tras el procesamiento de la muestra, seguida de purificación cromatográfica con columna de sílice en las condiciones descritas anteriormente. Se recoge el eluido separando tres fracciones de volúmenes, 11, 2 y 12 ml respectivamente, que corresponden a la división del cromatograma en tres secciones.

3.2.3.4. Separación HPLC de los xenoestrógenos en tres fracciones

- 1.- Se resuspende el residuo extraído en 1ml de hexano, se mezcla, y se inyectan 500 μ l.
- 2.- Se recogen los 11 primeros minutos en un tubo. Esta fracción es la llamada fracción α . Son compuestos organohalogenados.
- 3.- La fracción recogida entre los 11 y los 13 minutos es la llamada fracción x.
- 4.- En otro tubo se recoge la fracción entre los 13 y 32 minutos. Esta es la fracción β . Son hormonas naturales y otros compuestos no halogenados tipo alquifenoles y bifenoles.
- 5.- Se inyectan otros 500 μ l y se repiten los pasos 2-4.

3.2.3.5. Identificación y cuantificación de los componentes organoclorados por cromatografía de gases (CG/DCE)

El método utilizado para determinar pesticidas organoclorados es la cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE), debido a que son moléculas que en su estructura tienen átomos de cloro y responden muy bien a dicho detector.

Las fracciones α de HPLC se secan, disuelven en 100 μ L de hexano, se marcan con el patrón interno (*p*, *p'* diclorobenzofenona) e inyectan en el cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones (CG/DCE).

En cromatografía de gases, las fracciones x y β no presentaron señal. El objetivo es la identificación y cuantificación de los compuestos químicos que contenga.

Los compuestos químicos identificados en la fracción α fueron:

o, *p'* DDT, *p*, *p'* DDT, *o*, *p'* DDD, *p*, *p'* DDE (DDE), metoxicloro, endosulfán α , endosulfán β , endosulfán éter, endosulfán diol, endosulfán lactona, endosulfán sulfato, aldrin, dieldrin, endrin, mirex, clordano y γ hexaclorociclohexano (lindano).

Los límites de detección (LOD) para los diferentes organoclorados fueron de 0.1 ng/ml para el endosulfán éter; 0.5 ng/ml para *o*, *p'* DDT, lindano, endosulfán α , endosulfán diol, endosulfán sulfato; 1ng/ml para el metoxicloro; 2 ng/ml para el endosulfán β y endosulfán lactona; 3 ng/ml para el endrin; 5 ng/ml para el *p*, *p'* DDT, *o*, *p'* DDD, *p*, *p'* DDE y, finalmente, 10 ng/ml para el mirex (Rivas et al., 2001)

3.2.3.6. Confirmación por cromatografía de gases/espectrómetro de masas (GC/MS)

La presencia de pesticidas organoclorados en la fracción α de HPLC es confirmada mediante cromatografía de gases/espectrómetro de masas (GC/MS).

3.2.3.7. Determinación de lípidos totales

El cálculo de los lípidos totales en la muestra de tejido adiposo se determinó gravimétricamente, previa extracción de la citada materia grasa con una disolución de cloroformo: metanol: ácido clorhídrico, evaporación de los disolventes y posterior pesada del residuo (Rivas et al., 2001). Se utilizó para ello el siguiente protocolo:

- 1.- Se pesa el matraz vacío en el que se lleva a cabo la extracción.
- 2.- Se homogenizan 100 mg de tejido adiposo en 5 ml de cloroformo: metanol: ácido clorhídrico (20:10:0,1) en un “potter” de vidrio y se pasa a un tubo para centrifugar.
- 3.- Se extraen de nuevo 5 ml de cloroformo: metanol: ácido clorhídrico (20:10:0,1) y se pasa a otro tubo para centrifugar.
- 4.- Se añaden 5 ml de N HCL en cada tubo.
- 5.- Se centrifuga a 1800 g durante 10 minutos.
- 6.- Se recoge la fase orgánica en el matraz vacío pesado previamente.
- 7.- Se extrae la fase no orgánica de nuevo y se le añaden los productos de la primera extracción.
- 8.- Se pesa de nuevo el matraz, esta vez lleno.

El cálculo del porcentaje lipídico se lleva a cabo de acuerdo con la fórmula:

$$\% \text{ lípidos} = \frac{\text{Peso del matraz lleno} - \text{Peso del matraz vacío}}{\text{Peso del tejido adiposo}} \times 100$$

El contenido total de lípidos se expresa en gramos de lípidos por gramo de tejido adiposo.

3.2.4. Bioensayo para determinar la estrogenicidad

Los pasos que se describen a continuación incluyen la descripción de la línea celular de cáncer humano utilizada, los procedimientos para el ensayo E-Screen, la curva estándar de estradiol y la descripción de la transformación de proliferación celular como unidades equivalentes de estradiol.

3.2.4.1. Material y reactivos

- Línea celular MCF-7 (Tufts University, School of Medicine, Boston MA).
- Medio de Eagle modificado por Dulbecco (DME) (Norit A, Sigma Chemical Co, St. Louis, MO).
- Tripsina (Sigma).
- EDTA (Sigma).
- Cloruro cálcico (Sigma).
- Charcoal (Sigma).
- Sulphorhodamine-B (SRB) (Sigma).
- Tris base (Sigma).
- Dextrano T-70 (Pharmacia-LKB, Uppsala, Sweden).
- Charcoal Dextran treated Human Serum (CDHuS) (Irvine Scientific, Santa Ana, CA).
- Phenol red-free DME (BioWittaker Walkersville, MD).
- Fetal bovine serum (BioWittaker).
- Ácido tricloroacético (Panreac, Barcelona, Spain).
- 24-well plates (Limbro, MacLean, VA).
- 96-well plates (Limbro)

3.2.4.2. Líneas celulares

Se ha utilizado la línea celular de cáncer humano MCF-7. Esta línea fue establecida por Soule y colaboradores (1973) a partir de un carcinoma de mama humano (Soule et al., 1973). Su gran difusión como modelo experimental de cáncer de mama puede ser atribuida a que se trata de la primera línea celular documentada como receptor estrogénico positivo (Horwitz et al., 1978) que responde con cambios metabólicos y estructurales a la acción de los estrógenos (Lippman et al., 1986). La línea celular MCF-7 presenta, además, receptores

específicos para otros agentes hormonales, entre los cuales se encuentran los andrógenos, progestágenos, glucocorticoides, vitamina D₃, hormonas tiroideas, prolactina, insulina, calcitonina y factores estimuladores del crecimiento celular (Lippman et al., 1986).

En el presente estudio, se ha empleado el stock de las células MCF-7 BUS cedidas por el Dr. C. Sonnenschein (Tufts University, Boston, EE.UU.) y clonadas como C₇MCF-7 a partir del pase 173 de la MCF-7 original cedida por el Dr. McGrath de la Michigan Cancer Foundation.

3.2.4.3. Experimentos de proliferación celular: Test E-Screen

El test E-Screen se realizó siguiendo la metodología previamente descrita por Soto (Soto et al., 1992) modificada por Villalobos (Villalobos et al., 1995). Las células MCF-7 en confluencia fueron tripsinizadas y alícuotas de esta suspensión, se sembraron en placas de 24 pocillos a concentraciones iniciales de 20.000-40.000 células por pocillo en medio de mantenimiento, medio mínimo esencial con sales de Earle y con rojo fenol, DMEM(+RF), suplementado con el 5% de suero bovino fetal. Una vez que las células están adheridas al soporte plástico de la placa (generalmente 24-48 horas), se retira el medio de mantenimiento y se añade medio experimental desprovisto de rojo fenol y suplementado con el 10% de suero humano desprovisto de estrógenos, CDHuS. Estradiol 17- β y las alícuotas de las fracciones α y β se añaden al medio de cultivo. El ensayo finaliza a las 144 horas de subcultivo (fase exponencial) tras la aspiración del medio y la fijación de las células para la aplicación de la técnica de la sulforrodamina-B o la adición de solución lisadora para obtener los núcleos y proceder a su recuento, pudiendo, finalmente, comparar la proliferación celular inducida por el estradiol y las alícuotas de las fracciones α y β .

Una vez realizado el ensayo E-Screen, se procedió a establecer la tasa máxima de proliferación celular inducida por cada compuesto, también llamada efecto proliferativo (EP), calculada como la relación existente entre la máxima tasa de proliferación obtenida para cada compuesto y la tasa de proliferación alcanzada por el control.

También se ha estimado para cada compuesto la eficacia proliferativa relativa (EPR). Para ello se divide la tasa máxima de proliferación celular

obtenida para cada compuesto entre la tasa máxima de proliferación celular alcanzada por el 17 β estradiol. El valor resultante se expresa en tanto por ciento, estimando el 100% para el 17 β estradiol. Por último, para cada compuesto se ha estimado también la potencia proliferativa relativa (PPR), calculada como la relación existente entre la concentración a la cual el producto testado presenta máxima capacidad proliferativa, y aquella a la que el 17 β estradiol presenta su máximo efecto proliferativo. El valor resultante se expresa en tanto por ciento, estimando el 100% para el 17 β estradiol. Cuando el efecto proliferativo relativo de un xenoestrógeno es entorno a 100 se le considera como un agonista completo, si el valor está alrededor de 1 se le considera como un compuesto que carece de actividad estrogénica. Para los valores intermedios se habla de agonistas parciales.

3.2.4.4. Dosis-respuesta de estradiol

El primer paso para llevar a cabo este propósito es definir la curva de respuesta dosis-proliferativa de estradiol en la línea celular MCF-7 como curva de referencia (Rivas et al., 2001). A concentraciones por debajo de 1 pM de estradiol, equivalentes a 1 fmol de medio de cultivo, la media de número de células no difiere significativamente de aquella en medio de cultivo libre de estrógenos. Entonces, 1 fmol de estradiol es la cantidad más baja detectable entre los estrógenos en este ensayo.

3.2.4.5. Evaluación de la estrogénicidad de los extractos de tejido adiposo: fracciones α y β

Las fracciones cromatográficas α y β obtenidas por cromatografía líquida preparativa se ensayaron en el ensayo biológico E-Screen para determinar la carga hormonal correspondiente a cada fracción. Para ello, los extractos secos y duplicados de ambas fracciones se resuspendieron en 5 ml de medio de cultivo experimental suplementado con el 10% CDHuS y se agitaron con un vortex durante, al menos 5 minutos. Posteriormente las fracciones se esterilizaron con filtro de tamaño de poro de 0,22 μ m y se realizaron diluciones en medio de cultivo 1:1, 1:5 y 1:10 con objeto de poder asegurarse que efectos tóxicos de las muestras no enmascararan actividades estrogénicas o antiestrogénicas. Las diluciones obtenidas se sometieron, finalmente, al test junto a grupos celulares no

tratados (control) y a grupos celulares expuestos a estradiol-17 β a concentración 10 pM.

La actividad biológica de las muestras de tejido adiposo extraídas y testadas en el ensayo E-Screen permite cuantificar el efecto hormonal estrogénico y puede ser transformada en *unidades equivalentes de estradiol* (Eeq), es decir, en la concentración de estradiol que produciría un efecto proliferativo similar. Este concepto ha sido referido como carga estrogénica total efectiva (TEXB). En otras palabras, el *efecto proliferativo* (EP) es calculado como la proporción entre la máxima proliferación celular obtenida con 50 pM de estradiol y la proliferación obtenida en un control celular libre de hormonas. El *efecto proliferativo* de las fracciones α y β es referido como el efecto proliferativo máximo obtenido con estradiol y transformado en unidades equivalentes de estradiol (Eeq) (Rivas et al., 2001). Se asigna un valor de estrogenicidad a las muestras biológicas y convierte un marcador de exposición en un marcador de equivalencia biológica y de efecto biológico (Olea et al., 2002; Fernández et al., 2004). La carga estrogénica total efectiva (TEXB) es expresada como la concentración en pM que dan como resultado un efecto proliferativo (EP) relativo, similar al obtenido con las fracciones α y β y referidas al porcentaje lipídico de la muestra biológica. En este estudio nos referiremos a la TEXB α o β según hagamos mención a una u otra de las fracciones cromatográficas aludidas.

3.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y EPIDEMIOLÓGICO

3.3.1. Selección de las variables recogidas de la encuesta epidemiológica y de la historia clínica

De todas las variables recogidas en la encuesta epidemiológica y de la revisión de la historia clínica de las pacientes, las variables escogidas para el análisis estadístico y epidemiológico son las siguientes:

- Edad: variable cuantitativa continua medida como años cumplidos en la fecha en que la paciente es diagnosticada y da su consentimiento para participar en el estudio.
- Peso: variable cuantitativa continua medida en kilogramos, tanto en el momento del diagnóstico, es decir, al comienzo del estudio, como a los 3 meses.
- Talla: variable cuantitativa continua medida en centímetros al inicio del seguimiento.
- Índice de masa corporal (IMC): se utiliza el índice de Quetelet (IQ) calculado como el peso de la paciente en kg dividido por altura en metros al cuadrado (Kg/m^2).
- Nivel de escolaridad: variable categórica nominal policotómica con las siguientes categorías: no sabe leer/escribir, sabe leer/escribir, graduado escolar, bachiller elemental, bachiller superior y título superior.
- Hábito de tabáquico: variable categórica nominal policotómica para la que se establecieron tres categorías: las mujeres fumadoras habituales, las exfumadoras y las que no fumaban ni habían fumado.
- Ha trabajado en la agricultura: variable dicotómica referida a si la paciente ha tenido o sigue teniendo relación con trabajos agrícolas.
- Porcentaje de Ruralidad: parámetro calculado mediante la fórmula expresada a continuación, en la que se considera tanto el carácter rural o urbano del lugar de nacimiento como el del lugar de residencia, así como el número de años vividos en cada uno de dichos lugares. Los factores 0/1 representan urbano/rural respectivamente.

Se considera el 100% rural a aquella persona que ha nacido y vivido todos los años de su vida en zona no urbana

$$100(n^{\circ} \text{ años lugar nacimiento} * 0/1) + (n^{\circ} \text{ años lugar residencia} * 0/1)$$

$$\text{Porcentaje de ruralidad} = \frac{\text{Edad}}{\text{Edad}}$$

- Uso continuado de pesticidas: variable dicotómica que plantea si la paciente ha usado o no de forma continuada estos productos.
- Edad menarquia: variable cuantitativa discreta expresada en años completos.
- Edad menopausia: variable cuantitativa discreta expresada en años completos.
- Ha estado embarazada: variable dicotómica que refleja si la paciente ha estado o no embarazada.
- Edad del primer hijo a término: variable cuantitativa continua expresada en años completos.
- Número de hijos: variable cuantitativa continua que hace referencia al número de hijos nacidos vivos.
- Lactancia materna: variable categórica nominal dicotómica que expresa si la paciente ha amamantado o no a sus hijos.
- Meses de lactancia materna: variable cuantitativa continua expresada en meses correspondientes a la suma de los meses de lactancia de cada uno de sus hijos.
- Utilización de terapia hormonal sustitutiva: variable categórica nominal dicotómica con las categorías: sí y no. Se clasifican las mujeres en función de si han utilizado o no alguna vez terapia hormonal sustitutiva.
- Utilización de anticonceptivos orales: se clasifican las mujeres en función de si han utilizado o no alguna vez anticonceptivos orales.
- Meses de consumo de anticonceptivos orales: variable cuantitativa continua expresada en meses completos.
- Antecedentes personales de lesiones benignas de mama: variable dicotómica que recoge información sobre si la paciente ha tenido o no antecedentes de patología benigna de mama.
- Antecedentes personales de cáncer de mama: variable que expresa si la paciente tiene o no antecedentes personales de patología mamaria maligna.

- Antecedentes familiares de cáncer de mama: variable que recaba información sobre la existencia o no de casos de cáncer de mama en parientes.
- Estadio tumoral: Clasificación TNM (Apartado 3.4.)
- Tratamiento quirúrgico: se consideran 3 categorías: Tumorectomía más linfadenectomía axilar homolateral; Cuadrantectomía más linfadenectomía axilar homolateral; Mastectomía radical modificada (Madden).
- Quimioterapia preoperatoria: variable dicotómica que recoge información sobre si la paciente ha recibido o no tratamiento antineoplásico neoadyuvante.
- Quimioterapia postoperatoria: variable dicotómica que recoge información sobre si la paciente ha recibido o no tratamiento antineoplásico adyuvante.
- Tipo de quimioterapia postoperatoria: variable que recoge los distintos tipos de quimioterapia adyuvante: se establecen 5 categorías: No QT (no reciben quimioterapia), FAC (5-Fluoruracilo, Adriamicina y Genoxal), FEC (5-Fluoruracilo, Epiadriamicina y Ciclofosfamida), CMF (Ciclofosfamida, Metotrexate y 5-Fluoruracilo) y FEC + Taxol.
- Radioterapia postoperatoria: variable dicotómica acerca de si la paciente ha recibido o no radioterapia.
- Hormonoterapia: variable dicotómica acerca de si la paciente ha recibido o no hormonoterapia.
- Receptor estrogénico: variable categórica que recoge 4 apartados: intensa positividad/moderada positividad/baja positividad/negativo.
- Receptor de progesterona: variable categórica que recoge 4 apartados: intensa positividad/moderada positividad/baja positividad/negativo.
- Expresión del oncogen Cerb B2: variable categórica que recoge 4 apartados: intensa positividad/moderada positividad/baja positividad/negativo.
- Actividad proliferativa Ki 67: variable categórica que recoge 4 apartados: intensa positividad/moderada positividad/baja positividad/negativo.
- Proteínas reguladoras del ciclo celular y la apoptosis: variable que recoge distintas categorías en función de la positividad de la proteína P53.
- Recidiva tumoral: variable dicotómica que expresa la presencia o no de recidiva tumoral.
- Metástasis a distancia: variable dicotómica que expresa la presencia o no de patología tumoral diseminada.

3.3.2. Selección de las variables para el análisis químico de los pesticidas en suero y tejido adiposo

- Concentración de cada uno de los pesticidas analizados en suero: Variable cuantitativa continua expresada en ng/ml, obtenida para los pesticidas organoclorados analizados: o, p´DDT, p, p´DDT, o, p´DDD, p, p´DDE, Metoxicloro, Mirex, Lindano, Hexaclorobenceno, Vinclozolina, Endosulfán I y II, Endosulfán eter, Endosulfán lactona, Endosulfán diol, Endosulfán sulfato. Para DDT se calculó además el sumatorio de las concentraciones de este compuesto y metabolitos halladas en la muestra, expresado como ng DDE/ml. Igualmente se ha hecho con endosulfán y metabolitos, expresando el sumatorio como ng endosulfán/ml.
- Concentración de cada uno de los pesticidas analizados en suero y ajustados por el contenido lipídico: Variable cuantitativa continua expresada en ng/gr de lípido, obtenida para los pesticidas organoclorados analizados: o, p´DDT, p, p´DDT, o, p´DDD, p, p´DDE, Metoxicloro, Mirex, Lindano, Hexaclorobenceno, Vinclozolina, Endosulfán I y II, Endosulfán eter, Endosulfán lactona, Endosulfán diol, Endosulfán sulfato. Para DDT se calculó además el sumatorio de las concentraciones de este compuesto y metabolitos halladas en la muestra, expresado como ng DDE/gr de lípido. Igualmente se ha hecho con endosulfán y metabolitos, expresando el sumatorio como ng endosulfán/gr de lípido.
- Concentración de cada uno de los pesticidas analizados en tejido adiposo, tanto mamario como abdominal: Variable cuantitativa continua expresada en ng/gramo de tejido adiposo (ng/g), obtenida para los pesticidas organoclorados analizados: o, p´DDT, p, p´DDT, o, p´DDD, p, p´DDE, Metoxicloro, Mirex, Lindano, Hexaclorobenceno, Vinclozolina, Endosulfán I y II, Endosulfán eter, Endosulfán lactona, Endosulfán diol, Endosulfán sulfato. Igualmente para DDT se calculó el sumatorio de las concentraciones de este compuesto y metabolitos halladas en la muestra, expresado como ng DDE/g grasa. Igualmente se ha hecho con endosulfán y metabolitos, expresando el sumatorio como ng endosulfán/g grasa.
- Carga estrogénica total efectiva o TEXB, estimación de la concentración de estradiol con idéntica actividad proliferativa sobre las células de cáncer

mamario MCF-7 que el extracto de tejido adiposo. Se expresa en pM de estradiol por unidad de volumen de extracto (ml) o de grasa contenida en el extracto (g de lípido). De forma general se habla de unidades equivalentes de estradiol (Eeq) en concentración pM.

3.3.3. Análisis de los datos

3.3.3.1. Estudio descriptivo

Para las variables categóricas se obtuvo la proporción de cada categoría con respecto al total de sujetos.

Para las variables cuantitativas continuas, entre las que se cuentan los niveles de pesticidas, se obtuvo el valor medio y los parámetros de dispersión (desviación estándar, mediana, valores mínimo y máximo).

Hay que destacar que, se han mostrado los resultados obtenidos de los niveles de pesticidas en las distintas muestras biológicas (suero y tejido adiposo, tanto mamario como abdominal) considerando tres alternativas en la estimación de los parámetros de tendencia central:

- Incluyendo los valores O indetectables: es decir, se le asigna el valor O (concentración o nivel de pesticida=O) a aquellos pesticidas que en las muestras biológicas no han podido ser cuantificados y por lo tanto aparecen como valores perdidos.
- Incluyendo los valores indetectables como valores $\frac{1}{2}$ LD (Límite de Detección): se le asigna el valor de la mitad del límite de detección para aquel pesticida que no podido ser cuantificado.
- Sin considerar los valores no cuantificables: estos son los resultados que más se aproximan a la realidad ya que se consideran realmente los niveles de pesticidas incluyendo aquellos pesticidas no cuantificados como valores perdidos e indicando siempre el valor n.

Por lo tanto la sistemática ha sido la siguiente:

1. Niveles de pesticidas en suero en el momento de la intervención:
 - Incluyendo valores O: Expresado en ng/ml
Expresado en ng/g de lípido (ajustado por contenido lipídico)
 - Incluyendo valores $\frac{1}{2}$ LD: Expresado en ng/ml

Expresado en ng/g de lípido

- Incluyendo sólo valores cuantificables: Expresado en ng/ml

Expresado en ng/g de lípido

2. Niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario

- Incluyendo valores O: Expresado en ng/g de grasa
- Incluyendo valores 1/2 LD: Expresado en ng/g grasa
- Incluyendo sólo valores cuantificables: Expresado en ng/g de grasa

3. Niveles de pesticidas en suero a los 3 meses de la intervención

- Incluyendo valores O: Expresado en ng/ml

Expresado en ng/g de lípido (ajustado por contenido lipídico)

- Incluyendo valores 1/2 LD: Expresado en ng/ml

Expresado en ng/g de lípido

- Incluyendo sólo valores cuantificables: Expresado en ng/ml

Expresado en ng/g de lípido

4. Niveles de pesticidas en tejido adiposo abdominal (3 meses de seguimiento)

- Incluyendo valores O: Expresado en ng/g de grasa
- Incluyendo valores 1/2 LD: Expresado en ng/g grasa
- Incluyendo sólo valores cuantificables: Expresado en ng/g de grasa

3.3.3.2. Análisis bivariante

Es el análisis estadístico el que ha orientado para la selección tanto de los pesticidas como de las distintas variables que entran en juego para el análisis bivariante. Pesticidas seleccionados: o, p' DDT, p, p' DDT, o, p' DDD, p, p' DDE, Σ DDT Metoxicloro, Mirex, Lindano, Hexaclorobenceno, Vinclozolina, Endosulfán I y II, Endosulfán eter, Endosulfán lactona, Endosulfán diol, Endosulfán sulfato y Σ endosulfán. Variables seleccionadas: Edad, embarazo, número de hijos, número de meses de lactancia, índice de masa corporal al inicio y a los 3 meses, nivel educativo, porcentaje de ruralidad, trabajos agrícolas, uso continuado de insecticidas, estadio tumoral, radioterapia, quimioterapia pre y postoperatorias y tipo tratamiento quirúrgico.

Para el análisis de la correlación entre los niveles de pesticidas en las distintas muestras biológicas y las variables seleccionadas se han utilizados los niveles correspondientes a los valores cuantificables ya que la revisión de la literatura así lo aconsejaba.

Los tests estadísticos utilizados son los que se mencionan a continuación:

- Para la comparación de la diferencia entre los niveles de los distintos pesticidas en las diferentes muestras biológicas a los 3 meses y los niveles al comienzo del estudio se empleó una prueba no paramétrica para 2 muestras relacionadas (Test Wilcoxon)
- Para variables cuantitativas, se han considerado:
 - Como variable dependiente: nivel de pesticidas
 - Como variable independiente: variable cuantitativa
 - Y como coeficientes de correlación:
 - Pearson (no paramétrica)
 - Spearman (paramétrica)
- Para variables cualitativas:
 - Como variable dependiente: nivel de pesticidas
 - Como variable independiente: variable cualitativa
 - Como pruebas estadísticas de correlación:
 - Kruskal-Wallis (prueba no paramétrica para muestras independientes)
 - ANOVA: prueba paramétrica, log neperiano

El nivel de significación utilizado en las pruebas de contraste de hipótesis fue de $\alpha = 0,05$. Valores de $p < 0,05$ se consideraron significativos (test de dos colas).

Hay que reseñar que se consideran resultados con indicios de significación estadística aquellos en los que $p < 0,15$, y en los que $p < 0,01$ se consideran con alta significación estadística. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando como software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) para Windows, versión 11.0.

3.3.3.3. Análisis multivariante

Con objeto de determinar el efecto independiente de cada una de las variables, tanto cualitativas y cuantitativas, sobre la variable, niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario, se realizó una regresión lineal múltiple incluyendo en los modelos algunas de ellas que en el análisis bivalente dieron resultados estadísticamente significativos o estuvieron cerca de la significación estadística ($p < 0,15$).

3.4. CLASIFICACIÓN TUMORAL: TNM Y ESTADIO

Un aspecto importante para el clínico es la clasificación tumoral en función de su extensión; en otras palabras: de la etapa o estadio en que se encuentran. Ello tiene un importante valor pronóstico y permite decidir la estrategia terapéutica para cada paciente. Pierre Denoix, en los años 40, describió el sistema TNM donde:

- “T” se refiere al tamaño tumoral y su relación con estructuras vecinas.
- “N” se corresponde con el estado de los ganglios linfáticos de las áreas de drenaje.
- “M” a la presencia o no de metástasis a distancia.

Poco después, la Unión Internacional contra el Cáncer (UICC) nombró un Comité para elaborar la clasificación TNM de las principales localizaciones tumorales, basándose en criterios pronósticos. Los primeros cánceres que se clasificaron fueron los cánceres de mama y de laringe. Con el paso de los años, el sistema TNM ha sido actualizado en diversas ocasiones y cotejado con la clasificación del American Joint Cancer Committee on Cancer, hasta llegar a la 5ª edición en 1997, vigente en la actualidad.

La clasificación utilizada actualmente no varía conceptualmente de la descrita por Denoix, donde T se refiere al tamaño tumoral y su relación con estructuras vecinas, N se corresponde con el estado de los ganglios linfáticos de las áreas de drenaje y M a la presencia o no de metástasis a distancia. Existen dos clasificaciones TNM: una basada en criterios clínicos y de técnicas de imagen (cTNM) y otra, más definitiva, que se basa en el estudio anatomopatológico de biopsias o de piezas quirúrgicas (pTNM).

Una vez que se conocen las categorías T, N y M, se determina, en función de éstas, el estadio tumoral que va del I al IV; a veces con subdivisiones A, B, C. Cada estadio lo que realmente representa es un grupo pronóstico. Los anexos I y II muestran ambas clasificaciones.

Anexo I

La tabla muestra la clasificación TNM del cáncer de mama que ha permitido clasificar a las pacientes incluidas en este estudio.

T: Características del tumor primario

▪ T ₀		Sin evidencia de tumor primario
▪ T _{is}		Carcinoma <i>in situ</i>
▪ T ₁ :		Tumor de <2 cm
▪ T _{1 mic}	< 0,1 cm	
▪ T _{1a}	> 0,1-0,5 cm	
▪ T _{1b}	> 0,5-1 cm	
▪ T _{1c}	> 1-2 cm	
▪ T ₂		2-5 cm
▪ T ₃		> 5 cm
▪ T ₄ :		Afectación piel o pared torácica
▪ T _{4a}	Pared torácica	
▪ T _{4b}	Edema o ulceración piel o lesiones satélite	
▪ T _{4c}	T _{4a} + T _{4b}	
▪ T _{4d}	Carcinoma inflamatorio	

N: Afectación ganglionar

cN		pN	
Estadio clínico		Estadio patológico	
cN1	Ganglios axilares móviles	pN1:	
		pN1a	< 0,2 cm
		pN1b	> 0,2 cm
		pN1b (I)	1-3 ganglios
			> 0,2 a < 2 cm
		pN1b (II)	> 4 ganglios
			> 0,2 a < 2 cm
		pN1b (III)	< 2 cm con invasión capsular
		pN1b (IV)	> 2 cm
cN2	Ganglios axilares fijos	pN2	
cN3	Ganglios en la mamaria interna	pN3	

M: Metástasis a distancia

-
- M₀: Sin metástasis
 - M₁: Metástasis a distancia
- (Fuente: Sobin, 1999)

Anexo II

Clasificación TNM del carcinoma de mama. Agrupación por estadios.

	T	N	M
Estadio O	Tis	No	Mo
Estadio I	T1	No	Mo
Estadio IIA	T0-T1 T2	N1 No	Mo Mo
Estadio IIB	T2 T3	N1 No	Mo Mo
Estadio IIIA	T0-T3 T3	N2 N1-N2	Mo Mo
Estadio IIIB	T4 Cualquier T	Cualquier N N3	Mo Mo
Estadio IV	Tx	Nx	M1

(Fuente: Sobin, 1999)

RESULTADOS

4. RESULTADOS

En este trabajo se ha recogido y analizado la información referida a variables de orden socio-demográfico, clínico y anatomo-patológico de 35 pacientes diagnosticadas de cáncer de mama. Las mujeres que entran dentro de nuestro estudio de seguimiento fueron diagnosticadas de carcinoma ductal infiltrante de mama en la Unidad de Patología Mamaria del Servicio de Cirugía General del Hospital Clínico de Granada, una vez informadas de los objetivos y métodos del estudio y se les solicitó su participación en el mismo. Se presentan a continuación los resultados obtenidos en el análisis descriptivo de las variables edad, peso, talla, índice de masa corporal (IMC), nivel educativo, hábito tabáquico, desarrollo de trabajos agrícolas, uso continuado de insecticidas y ruralidad.

4.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

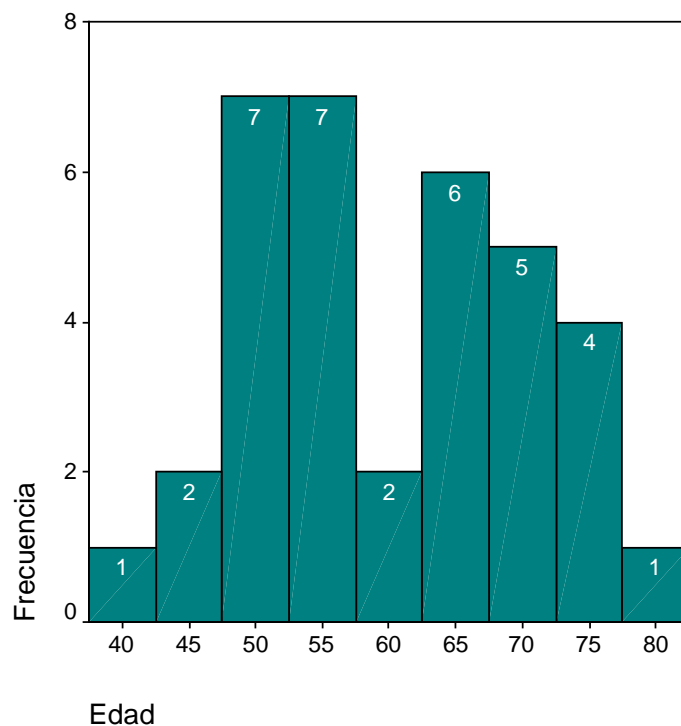
4.1.1. CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

4.1.1.1. Edad

La edad media de las mujeres incluidas en el estudio se sitúa entorno a los 60 años (60,74±10,78) con un rango de 40 a 79 años.

	Edad
Media*	60,74
Mediana*	62
Desv. típ.	10,78
Mínimo*	40
Máximo*	79
Percentiles 25*	51
50*	62
75*	69

* (años); n=35



Como se observa en el gráfico, las pacientes se distribuyen en torno a dos picos de edad: el 40% de ellas tienen en el momento del diagnóstico entre 50 y 55 años, mientras que un 31,4% de las mismas tienen entre 65 y 70 años.

4.1.1.2. Peso

El peso medio de las participantes al inicio del estudio estuvo cercano a los 74 kg ($73,80 \pm 15,39$) con un rango de 52 a 118 kg. Así mismo, el valor medio para el peso a los 3 meses de ser intervenidas fue de 74,42 kg ($74,42 \pm 14,27$) con un rango de 55 a 115 kg de peso.

Peso en la intervención	
Media*	73,80
Mediana*	72,00
Desv. típ.	15,39
Mínimo*	52
Máximo*	118

* kg; n=35

Peso a los 3 meses	
Media*	74,42
Mediana*	73,00
Desv. típ.	14,27
Mínimo*	55
Máximo*	115

*kg; n=35

4.1.1.3. Talla

Como se observa en la siguiente tabla, la altura de las pacientes alcanzó un valor medio de 150 cms ($150,04 \pm 5,54$) con un rango de 114 a 170 cms.

Talla	
Media*	150,04
Mediana*	159,00
Desv. típ.	5,54
Mínimo*	144
Máximo*	170

*cm; n=35

4.1.1.4. Resultados del índice de masa corporal (IMC)

El índice de masa corporal se calcula dividiendo el peso de la mujer en Kg entre la talla en metros al cuadrado (Kg/m^2). Representa, en cierto modo, el contenido en grasa corporal de las participantes. La media del IMC tanto en el momento del diagnóstico ($29,73 \pm 7,05$) como a los 3 meses ($29,98 \pm 6,59$) resultó ser superior al IMC considerado normal según la OMS, de modo que la

mayoría de las mujeres incluidas en el estudio se encuentran en sobrepeso y/o obesidad.

	IMC intervención	IMC a los 3 meses
Media*	29,73	29,98
Mediana*	28,48	28,88
Desv. típ.	7,05	6,59
Mínimo*	19,81	20,96
Máximo*	52,44	51,11

IMC Índice de masa corporal; * (Kgr/m²)

Según la clasificación de la OMS, la media del IMC de las mujeres reclutadas en el estudio se engloban en el rango de sobrepeso (25-29,99 Kg/m²).

Como podemos observar en la tabla siguiente, en la que se muestra la distribución de las participantes según la clasificación de la OMS en función del índice de masa corporal, tanto al inicio del estudio como a los 3 meses, la mayoría de las mismas se encuentran en sobrepeso o con obesidad. De esta manera, el 65,7% de las mujeres tienen en el momento del estudio, bien sobrepeso, bien obesidad en distintos grados. Así mismo, a los 3 meses el 77,1% de las pacientes presentan sobrepeso u obesidad.

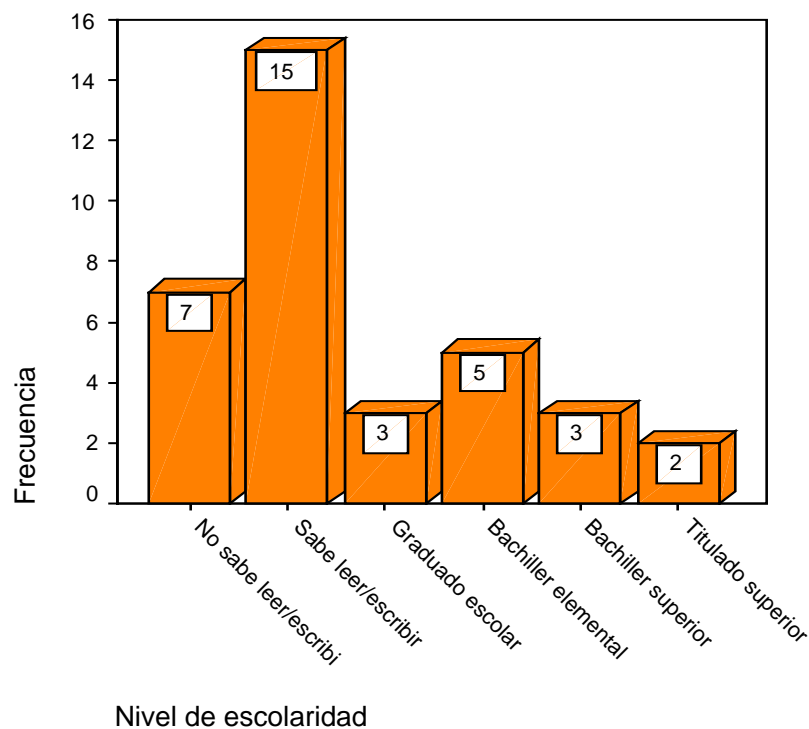
	IMC*	IMC intervención	IMC a los 3 meses
Normal	18,5-24,99	34,28%	22,85%
Sobrepeso	25-29,99	22,85%	28,57%
Obesidad clase I	30-34,99	22,85%	28,57%
Obesidad clase II	35-39,99	11,43%	11,43%
Obesidad clase III	≥ 40	8,57%	8,57%

* Kgr/m²

4.1.1.5. Nivel educativo

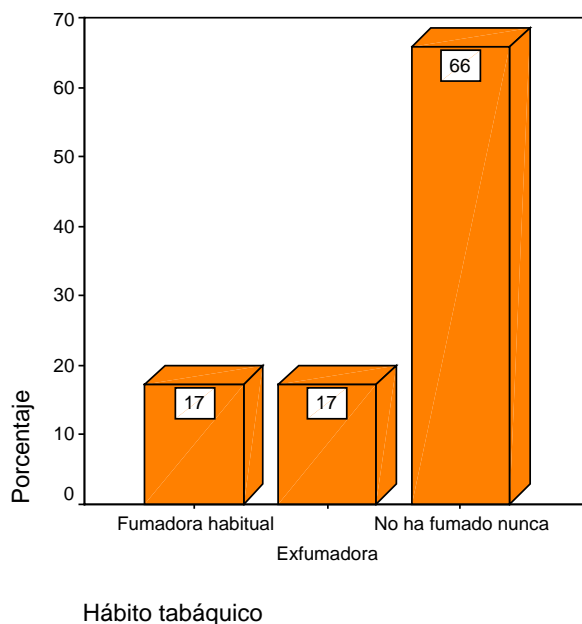
Atendiendo al nivel de escolaridad, observamos que en general el nivel escolar es bajo, ya que un 20% de las participantes no sabe leer ni escribir. Un 42,8% sabe leer y escribir. El 37,2% restante son pacientes que, al menos, tienen el graduado escolar, siendo la distribución que se muestra en la tabla siguiente:

Educación	Porcentaje
Título superior	5,71
Bachiller superior	8,57
Bachiller elemental	14,28
Graduado escolar	8,57
Sabe leer/escribir	42,85
No sabe leer/escribir	20



4.1.1.6. Hábito tabáquico

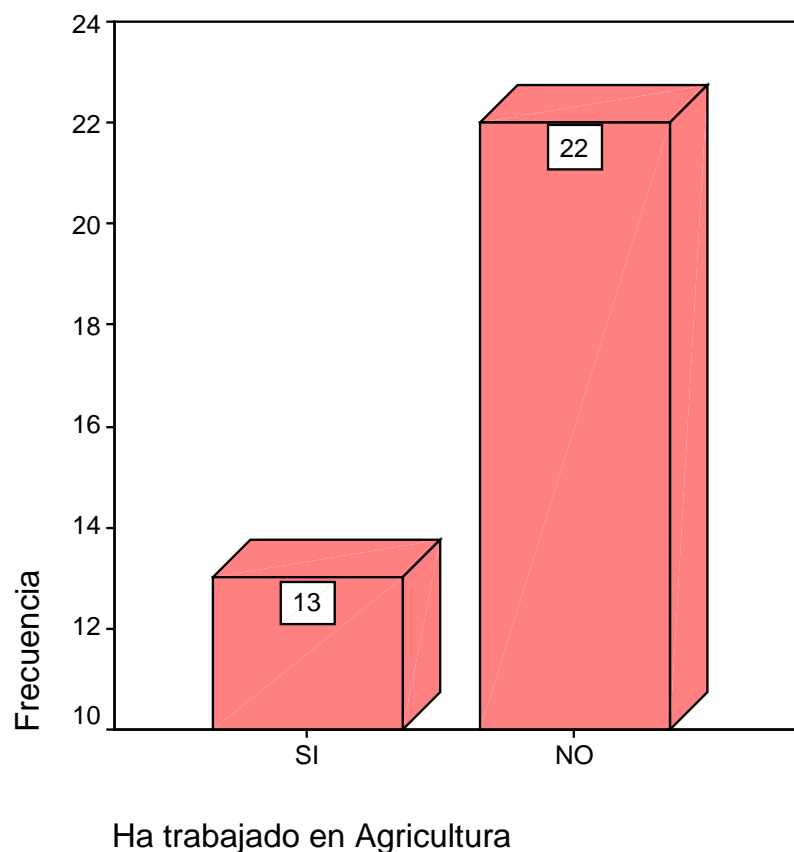
En cuanto al consumo de tabaco podemos observar que un alto porcentaje de las pacientes ni fuma ni ha fumado nunca (66%). Suman un total del 34% las pacientes que tienen o han tenido contacto con el tabaco, siendo un 17% las pacientes que aún continúan fumando, mientras que el otro 17% confiesan ser exfumadoras.



Fumadoras	Porcentaje
Fumadora habitual	17
Exfumadora	17
No fuma ni ha fumado	66

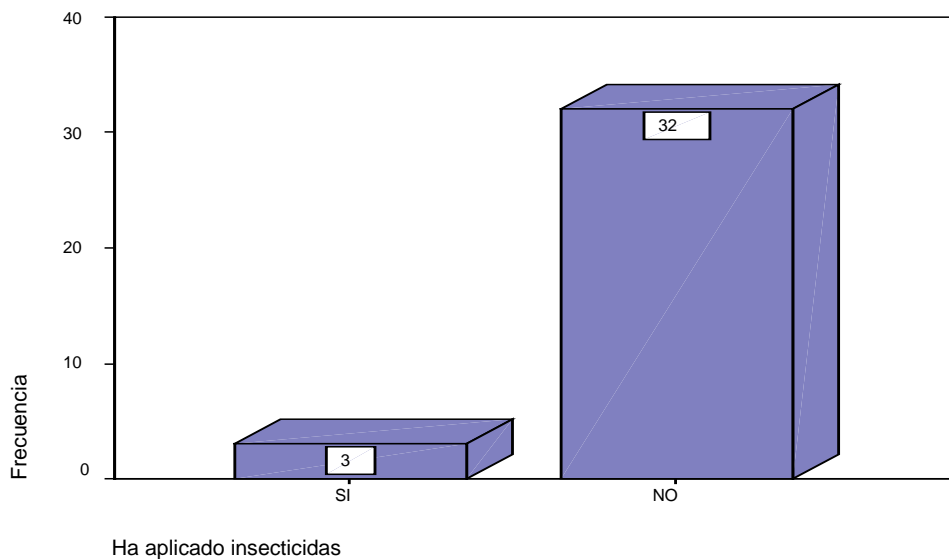
4.1.1.7. Relación con la agricultura

Como se puede apreciar en la tabla que se muestra a continuación el 37,1% de las pacientes de nuestro trabajo han desarrollado o siguen realizando alguna actividad agrícola.



4.1.1.8. Uso de insecticidas

A pesar de que el porcentaje de mujeres que declaran haber realizado trabajos agrícolas es relativamente alto, sólo un 8,5% afirman haber utilizado insecticidas. No se consideran manipuladoras directas, ya que, probablemente en la mayoría de los casos, ellas no hacen uso directo de los productos sino que es otro miembro de la familia quién desempeña esa labor.



4.1.1.9. Ruralidad

Parámetro calculado mediante la fórmula que se expresa a continuación, en la que se considera tanto el carácter rural o urbano del lugar de nacimiento como el del lugar de residencia, así como el número de años vividos en cada uno de dichos lugares. Los indicadores 0/1 representan urbano/rural, respectivamente. Se considera el 100% rural a aquella persona que ha nacido y vivido todos los años de su vida en zona no urbana.

$$\text{Porcentaje de ruralidad} = \frac{100(n^{\circ} \text{ años lugar nacimiento} * 0/1) + (n^{\circ} \text{ años lugar residencia} * 0/1)}{\text{Edad}}$$

Los datos obtenidos para la población de estudio muestran que el valor medio del porcentaje de ruralidad es del 55%, y que un 54,3% de las mujeres participantes se consideran rurales, estableciéndose a priori como rural un porcentaje de ruralidad superior al 50%.

4.1.2. ANTECEDENTES DE VIDA REPRODUCTIVA DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

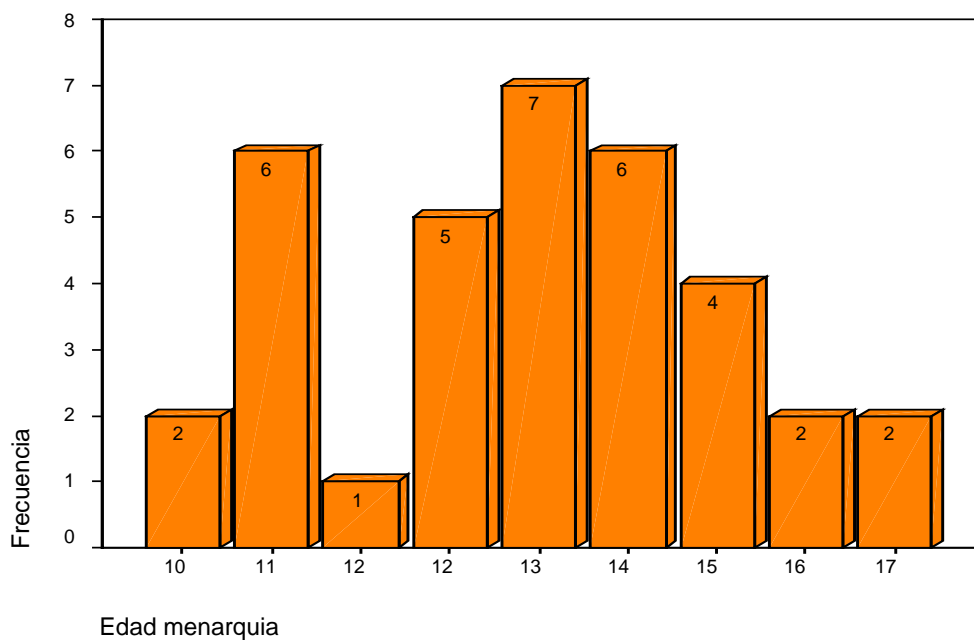
4.1.2.1. Eventos relacionados con la fertilidad

Se supone que la repetición continuada de los estímulos hormonales sobre el epitelio glandular mamario constituye un factor que incrementa el riesgo potencial de presentar un carcinoma. Por esta razón ha resultado de interés recoger la información existente, entre otros datos, sobre la edad de la menarquia, de la menopausia y del primer embarazo a término, datos que se presentan en la tabla siguiente.

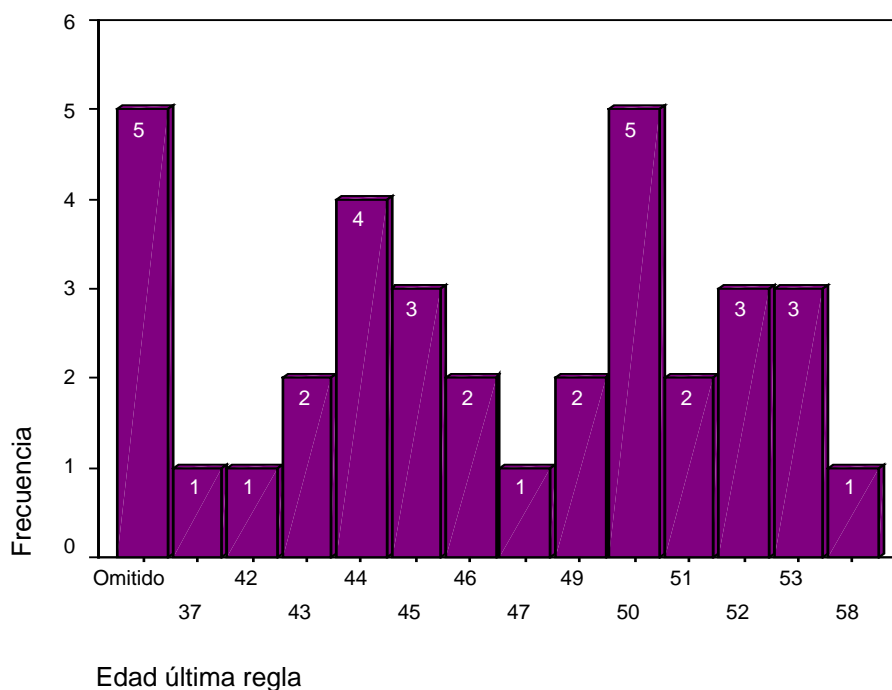
		Edad menarquia	Edad menopausia	Edad primer hijo a término
n	Válidos	35	30	30
	Perdidos	0	5	5
Media*		13,10	47,93	26,23
Mediana*		13	49	26
Desv. típ.		1,88	4,43	4,04
Mínimo*		10	37	17
Máximo*		17	58	39
Percentiles*	25	11,50	44,00	24,75
	50	13	49	26
	75	14,00	51,25	28,00

* años

Los antecedentes de historia reproductiva indican que la edad media para la menarquia fue de 13 años ($13,10 \pm 1,88$), con un rango 10 a 17 años.

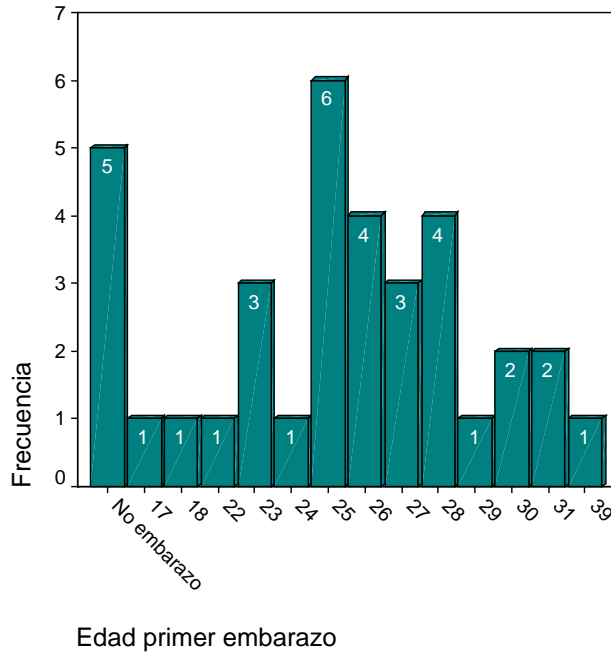


La edad media de la menopausia está entorno a los 48 años ($47,93 \pm 4,43$) con un rango entre 37 y 58 años.

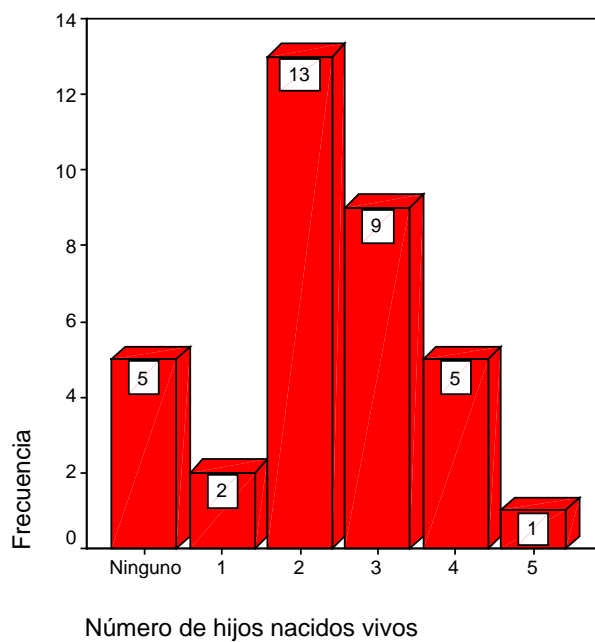


Las mujeres nulíparas tienen un mayor riesgo de cáncer de mama que las que han tenido hijos. Por otro lado, cuanto menor es la edad a la que se tiene el primer embarazo a término, menor es el riesgo. La edad media del primer

embarazo se sitúa alrededor de los 26 años ($26,23 \pm 4,04$), con un rango entre 17 y 39 años.



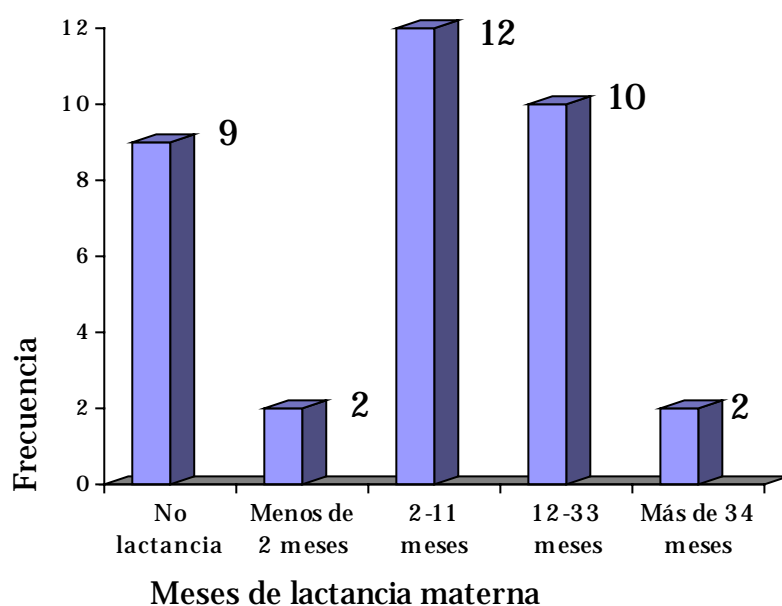
Así mismo, y como representamos en este gráfico, un 37,14% de las mujeres, han tenido 2 hijos y un 25,71%, 3 hijos. Cinco de nuestras pacientes tuvieron 4 hijos, una paciente 5 hijos y dos pacientes 1 hijo.



4.1.2.2. Lactancia

Algunos estudios han sugerido que la lactancia materna prolongada reduce el riesgo de cáncer de mama en la premenopausia (Newcomb et al., 1994) por lo que se prestó especial atención a las respuestas del cuestionario a este respecto. Además se ha sugerido que la lactancia materna es una de las vías de detoxificación de pesticidas para la mujer (Furberg et al., 2002). De las 35 pacientes, 24 han dado lactancia materna durante un tiempo medio en torno a 14 meses ($14,73 \pm 14,91$) con un máximo de 68 meses.

Como se puede apreciar en el histograma siguiente, un 34,29% de las pacientes han dado lactancia materna entre 2 y 11 meses y un 28,57% entre 12 y 33 meses. Es decir, el 62,68% de las participantes ha dado lactancia materna entre 2 y 33 meses, siendo la media del tiempo de lactancia, como se ha comentado anteriormente, de 14,73 meses.

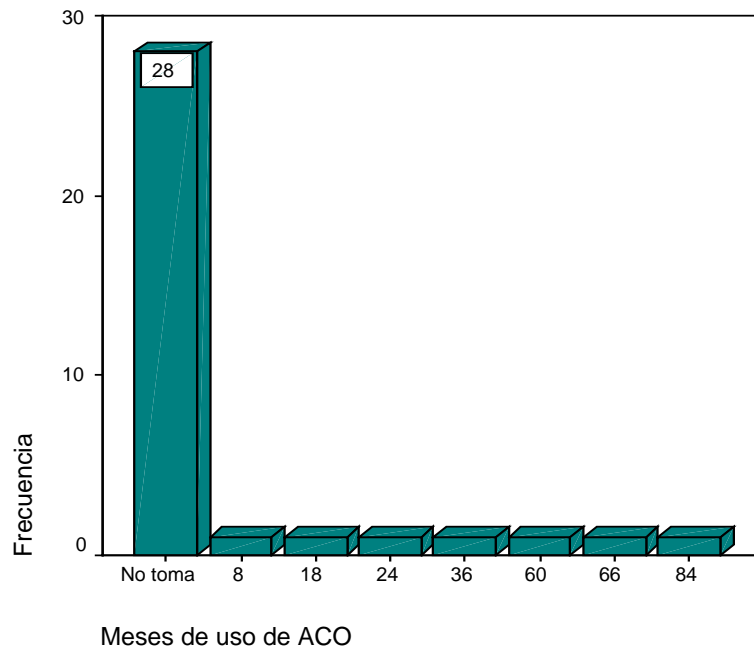


4.1.2.3. Tratamientos hormonales

Existen estudios que muestran pequeños aumentos estadísticamente significativos del riesgo de cáncer de mama, directamente proporcionales a la duración del consumo de hormonas esteroideas (Steinberg et al., 1991; Sillero-Arenas et al., 1992) ya sea en tratamientos sustitutivos o ya sea en terapia anticonceptiva.

Hemos constatado que el 91,43% de las pacientes incluidas en este estudio no tenía tratamiento hormonal sustitutivo, ni refería haberlo tenido.

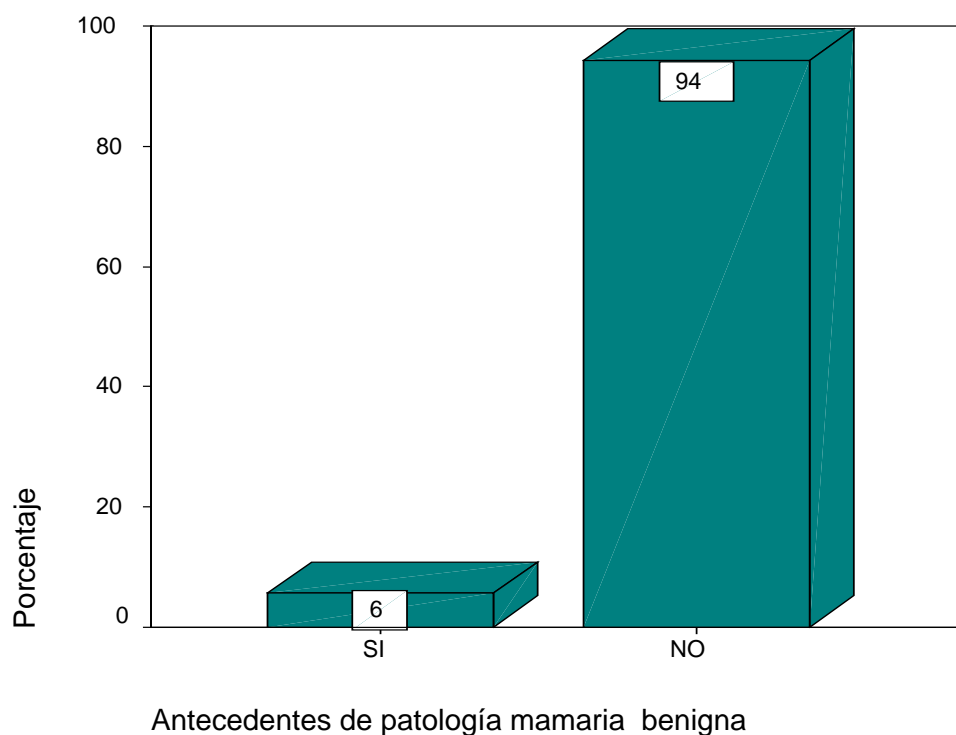
Un 20% de las pacientes reclutadas tomaron o toman anticonceptivos orales. El tiempo de ingesta de esa medicación está entorno a los 42 meses ($42,29 \pm 28,15$) con un rango comprendido entre 8 y 84 meses.



4.1.3. ANTECEDENTES DE PATOLOGÍA MAMARIA PERSONAL O FAMILIAR

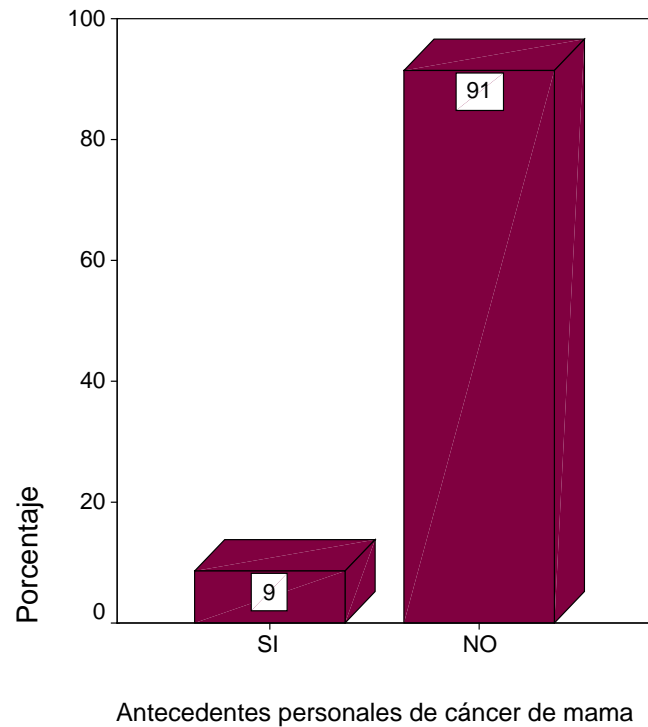
4.1.3.1. Antecedentes personales de lesiones benignas de mama

Las lesiones benignas no proliferativas no parecen asociarse con un mayor riesgo de cáncer de mama; sin embargo, las lesiones proliferativas con atipias, como la hiperplasia atípica conllevan un pequeño aumento del riesgo. En el grupo de estudio la patología benigna de la mama no ha estado presente en el 94% de las enfermas, tan sólo un 6%, contaban con antecedentes de alteraciones fibroquísticas de la mama, quiste galactofórico y tumores del estroma (fibroadenoma).



4.1.3.2. Antecedentes personales de cáncer de mama

Las pacientes tratadas por un tumor primario de mama tienen un riesgo de desarrollar un segundo cáncer de mama de 3 a 5 veces más alto que la población general. Hemos recogido que el 9% de las mujeres de nuestro trabajo han sido tratadas previamente por un cáncer de mama.

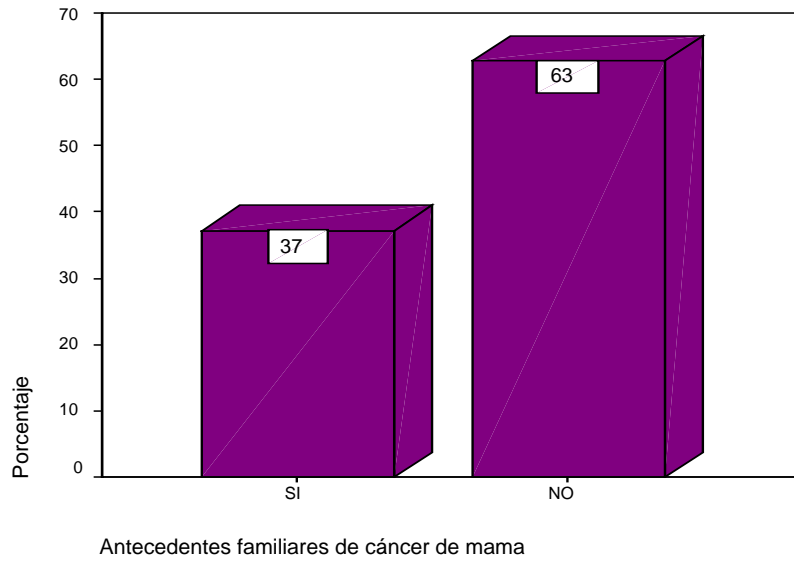


4.1.3.3. Antecedentes familiares de cáncer de mama

El cáncer de mama más frecuente es el esporádico, que es aquel que se presenta en un individuo sin antecedentes familiares en dos o más generaciones. Éste representa el 65-70% de todos los carcinomas de mama.

Como se aprecia en la figura, un 37% de las enfermas presentaban en el momento del diagnóstico antecedentes familiares de cáncer de mama. Es el llamado cáncer de mama familiar, es decir, aparece en una paciente con uno o más familiares de primer o segundo grado afectados (abuelas, tías, madre). Cuatro de las pacientes tenían hermanas afectas de cáncer de mama; seis de ellas, abuelas con esa patología y tres con tías que habían padecido la enfermedad. El resto, no tiene ningún miembro de primer ni segundo grado diagnosticado de cáncer de mama, es decir, en nuestra serie el cáncer de mama esporádico

representa el 63%. Aunque la serie es pequeña los datos son similares a los descritos en poblaciones más extensas.

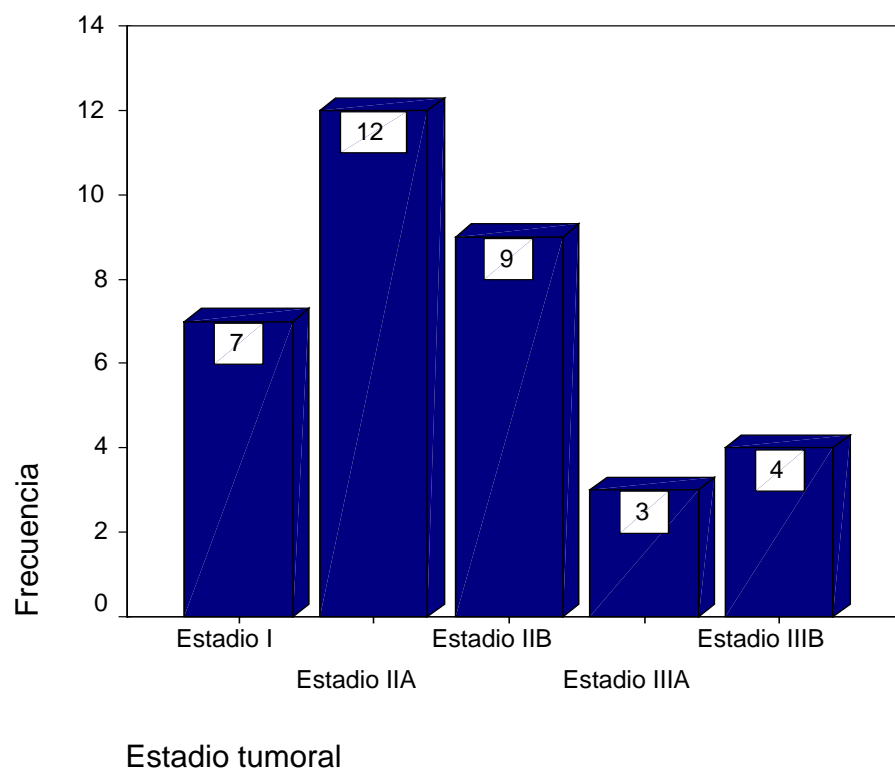


4.1.4. CLASIFICACIÓN TUMORAL TNM

Un aspecto de importancia capital para orientar la decisión clínica es la adecuada clasificación tumoral en función de su extensión, etapa o estadio en que se encuentra la enfermedad tumoral. Esto tiene un importante valor pronóstico y permite decidir la estrategia terapéutica para cada paciente.

Una vez que se conocen las categorías T, N, y M, se determina, en función de éstas, el estadio tumoral, que va del I al IV; a veces, con subdivisiones A, B, C. Cada estadio, lo que realmente representa es un grupo pronóstico. En los anexos I y II (de la sección de Material y Métodos) se muestran ambas clasificaciones para recordatorio.

El grupo de enfermas incluidas en este estudio se distribuye en los estadios indicados en la tabla siguiente. La mayoría de ellas se encuentran en un Estadio II (60%), de los cuales un 34% corresponden a un Estadio IIA y un 26% al Estadio IIB. Un 20% presentan una enfermedad local avanzada (Estadio III), siendo el 9% Estadio IIIA y un 11% Estadio IIIB. El 20% restante se encuentran en un Estadio I, más favorable desde el punto de vista pronóstico. Es importante destacar que ninguna paciente ha presentado enfermedad tumoral a distancia (Estadio IV).



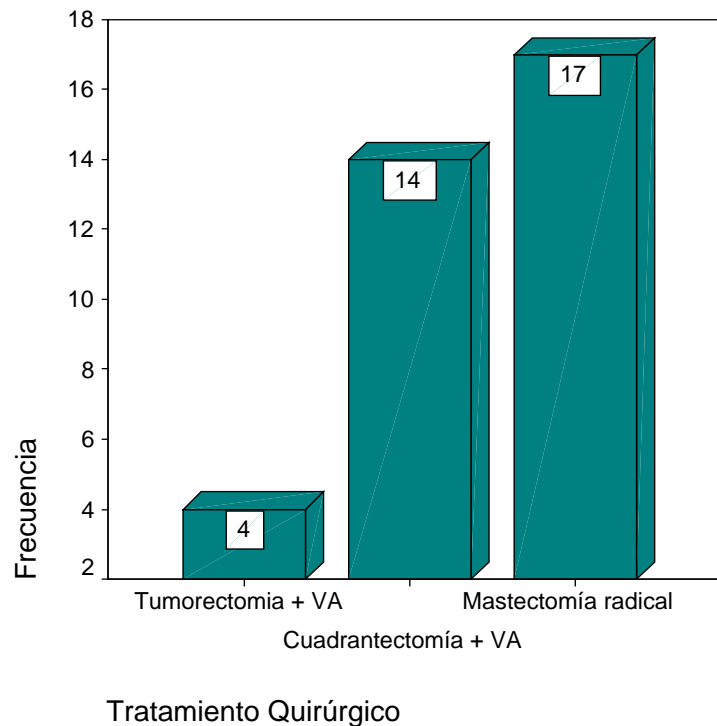
4.1.5. TRATAMIENTO

A continuación se muestran los datos clínicos extraídos de las historias de las pacientes incluidas en este estudio, que hacen referencia al tratamiento al que fueron sometidas. En todos los casos el tratamiento quirúrgico fue el de elección, acompañado en muchos de los casos por el tratamiento quimio y radioterápico.

4.1.5.1 Tratamiento quirúrgico

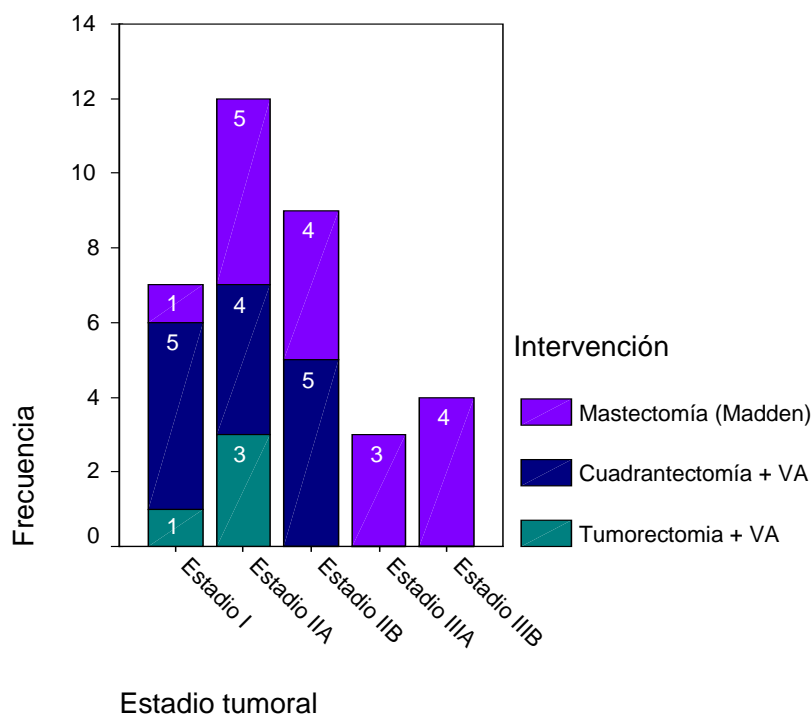
El tratamiento local del cáncer de mama ha sido durante años motivo de controversia y es aún motivo de discusión. Durante mucho tiempo el tratamiento locorregional se ha considerado exclusivamente quirúrgico. No obstante, el mejor conocimiento de la biología del tumor y los tratamientos adyuvantes, han planteado actitudes quirúrgicas menos agresivas, evitando intervenciones más mutilantes que no mejoran la supervivencia y que se complementan con otras opciones terapéuticas. El 48% de las pacientes incluidas en este estudio han requerido mastectomía radical modificada según técnica de Madden, es decir, exéresis de la mama afecta y del tejido linfograso axilar homolateral, respetando los músculos pectoral mayor y menor. Un 40% se han sometido a cuadrantectomía (extirpación del tejido glandular, aponeurosis del pectoral mayor y un segmento de piel que incluye un cuadrante de la glándula) más linfadenectomía axilar homolateral.

Por último, la tumorectomía o exéresis del nódulo o tumoración más disección axilar ha quedado reservada para un 12% del grupo.



Hasta mediados de los años 80, el tratamiento para el cáncer de mama en los estadios I y II era la mastectomía más linfadenectomía axilar. En la actualidad se ha demostrado que la cirugía conservadora asociada a radioterapia postoperatoria tiene la misma supervivencia que la mastectomía. En general, son candidatas a tratamiento conservador los estadios I y II o tumores de más de 5 cm con buena relación tamaño del tumor/ tamaño de la mama. También tumores en estadio III que responden a quimioterapia preoperatoria. El resto de pacientes serían candidatas a mastectomía junto con vaciamiento axilar homolateral.

Atendiendo al tratamiento recibido por estadios hemos apreciado que, del 48% de las mujeres que son mastectomizadas el 2% pertenecen al Estadio I, un 26% al Estadio II y un 20% al Estadio III. De la misma forma, del total de enfermas tratadas mediante cuadrantectomía, el 14% pertenecen al Estadio I y un 26% al Estadio II. Por último, del 12% que son sometidas a tumorectomía, el 3% presentan un Estadio I y el 9% un Estadio II.



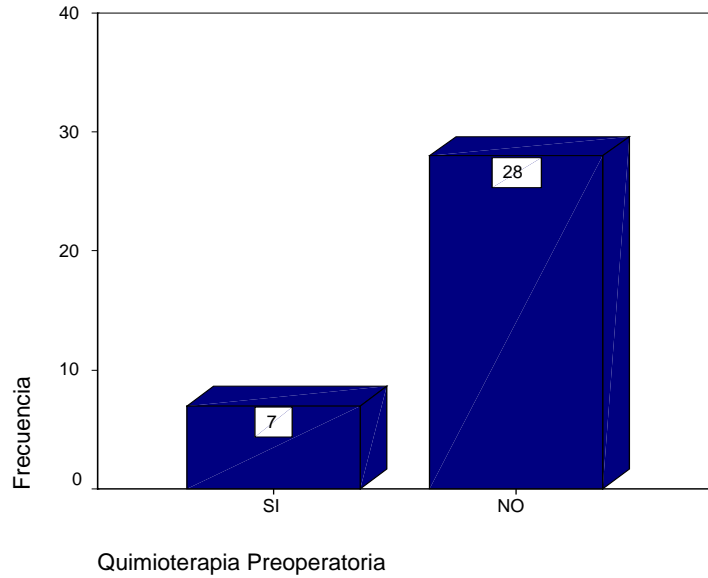
4.1.5.2. Quimioterapia antineoplásica

El tipo de quimioterapia y radioterapia para cada paciente ha sido elegido en base a la experiencia y protocolos del Servicio de Oncología del Hospital Clínico Universitario de Granada.

Los distintos regímenes de quimioterapia utilizados en las pacientes son los siguientes:

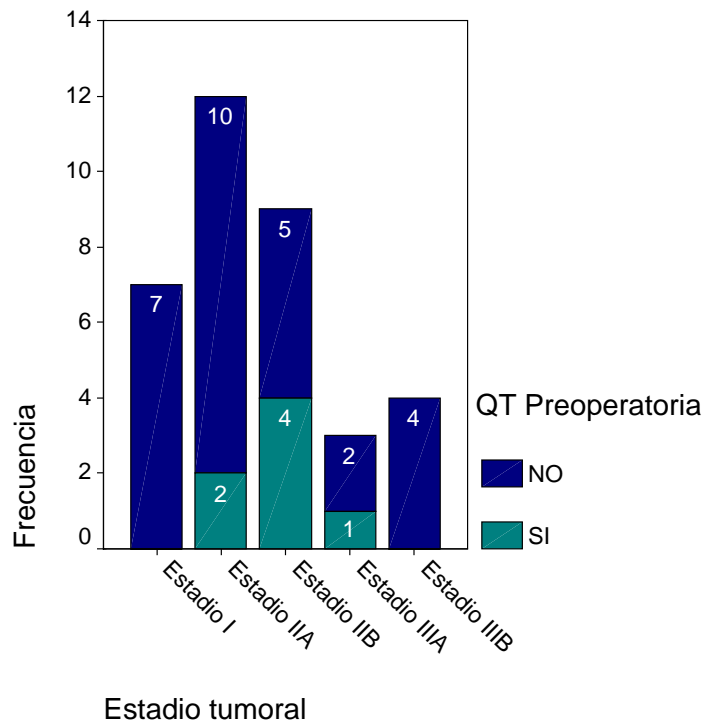
- FAC (5-Fluoruracilo, Adriamicina y Genoxal)
- CMF (Ciclofosfamida, Metotrexate y 5-Fluoruracilo)
- FEC (5-Fluoruracilo, Epiadriamicina y Ciclofosfamida)
- FEC más TAXOL

Se entiende por tratamiento neoadyuvante aquel que se administra previamente a la intervención quirúrgica de un tumor, con el propósito principal de reducir la extensión de la cirugía.



El 20% de las pacientes incluidas en este estudio han recibido quimioterapia preoperatoria. Todas ellas lo han hecho en régimen Flexi-FAC con 3 ciclos salvo una paciente que ha recibido 4 ciclos. Posteriormente fueron intervenidas quirúrgicamente y se completó el tratamiento con la administración de 3 ó 4 ciclos de FAC y radioterapia postoperatoria.

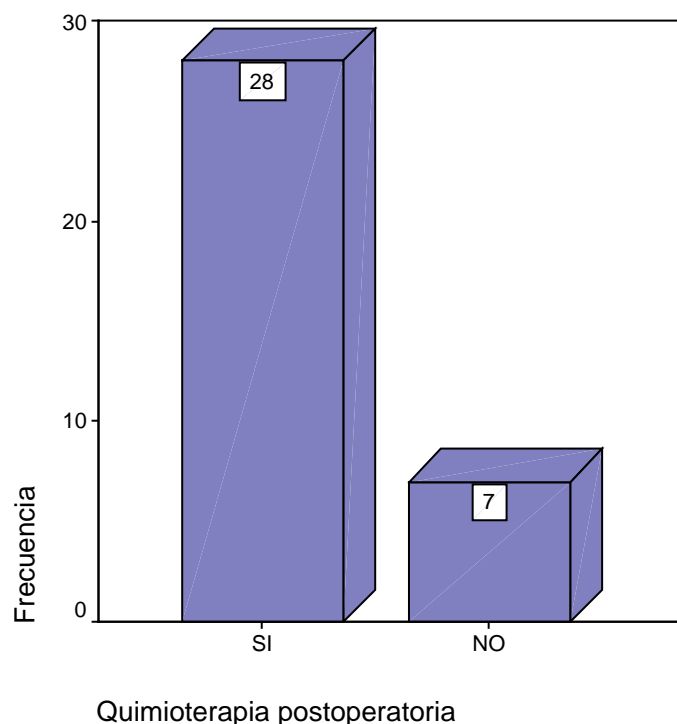
La mayoría de las mujeres que recibieron tratamiento neoadyuvante se encontraban en Estadio II (86%), como se puede ver en el gráfico siguiente.

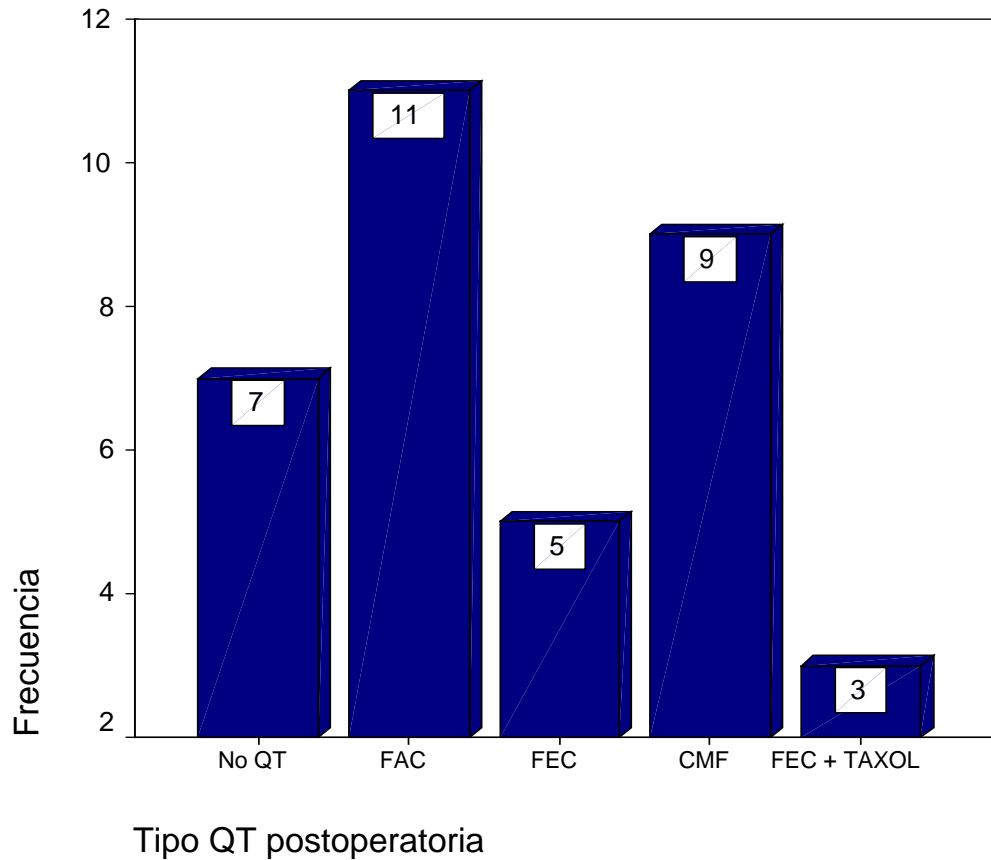


El tratamiento complementario o adyuvante del cáncer de mama es aquel que se administra después del tratamiento quirúrgico con el fin de destruir o impedir el crecimiento de las micrometástasis, cuya existencia se supone, pero no se puede demostrar en el momento de la cirugía.

Si atendemos a la serie global de pacientes, se observa que 28 de ellas recibieron tratamiento adyuvante, pero hay que tener en cuenta que dentro de este grupo se incluyen las 7 que recibieron neoadyuvancia. El desglose pormenorizado, por tanto, podría ser el siguiente:

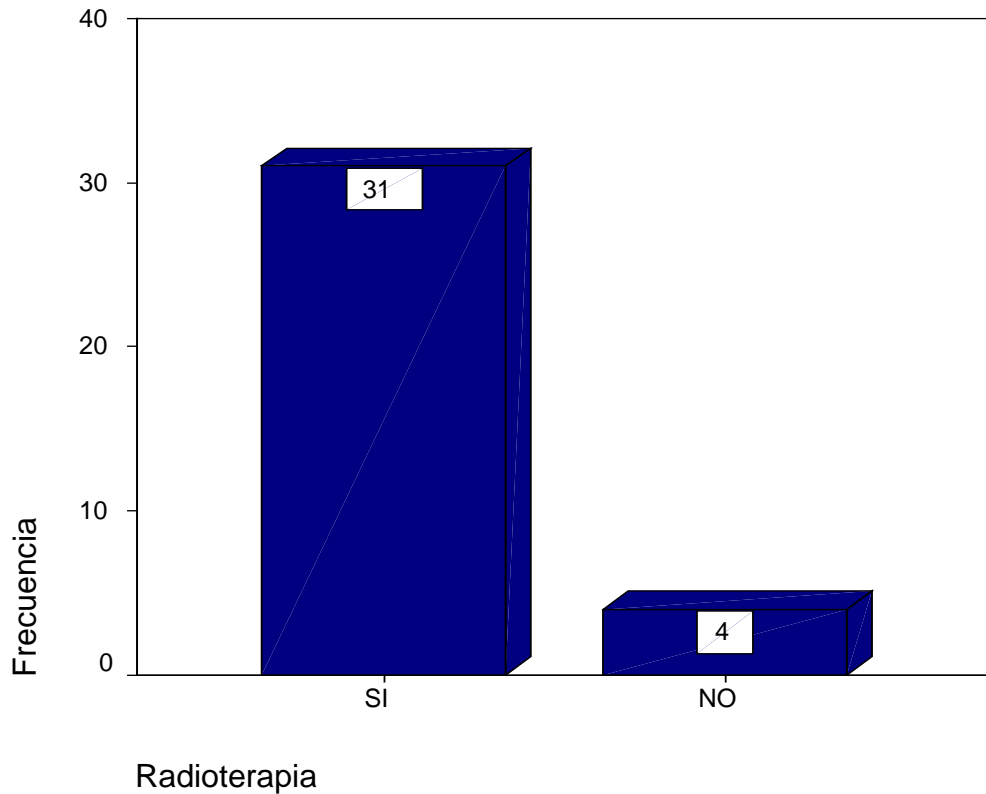
- 7 pacientes no reciben quimioterapia
- 4 pacientes reciben 6 ciclos de FAC (también reciben 3 ciclos de FAC 7 pacientes que habían recibido QT preoperatoria)
- 5 mujeres reciben 6 ciclos de FEC
- 9 pacientes reciben 6 ciclos de CMF
- 3 pacientes 4 ciclos de FEC más 8 de TAXOL





4.1.5.3. Radioterapia postoperatoria

Tras la mastectomía, la radioterapia se administra en pacientes consideradas de alto riesgo, ya que disminuye la recidiva locorregional, incluso entre las que reciben quimioterapia, y aumenta la supervivencia global. De las 17 pacientes que ha sido tratadas mediante el procedimiento de la mastectomía radical, han necesitado radioterapia como tratamiento adyuvante 13, es decir, el 76,5%. El 23,5% restante no han podido beneficiarse de la radioterapia.



4.1.5.4. Hormonoterapia complementaria

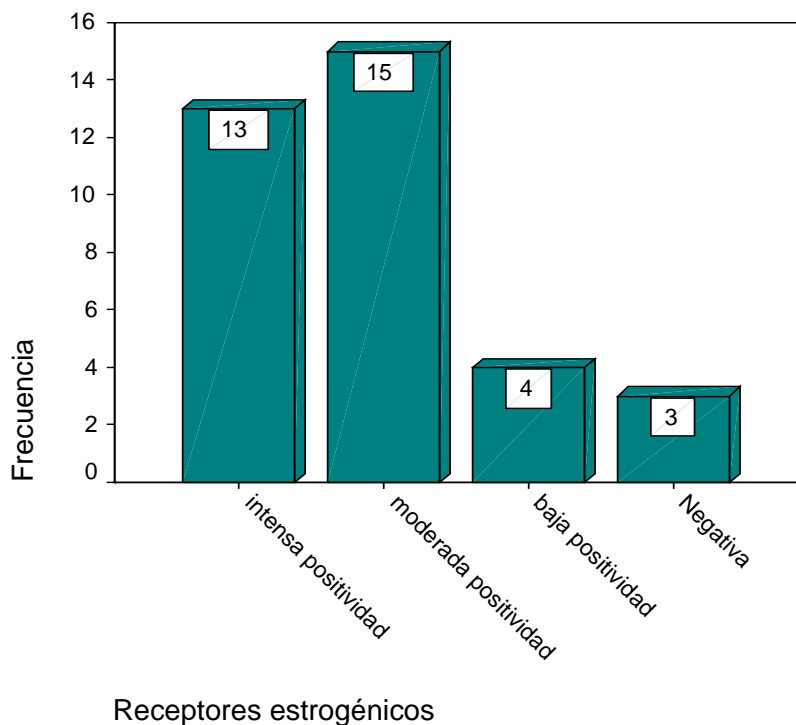
El empleo durante más de 3 años de tamoxifeno beneficia a las pacientes con receptores hormonales positivos tanto premenopáusicas como posmenopáusicas, así como aquellas con ganglios axilares positivos y negativos (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group, Lancet 1998, N Engl J Med 1998), por esta razón, la totalidad de las pacientes de las que nos ocupamos en este estudio de seguimiento recibieron 20 miligramos de tamoxifeno al día.

4.1.6 FACTORES INMUNOHISTOQUÍMICOS CON VALOR PRONÓSTICO

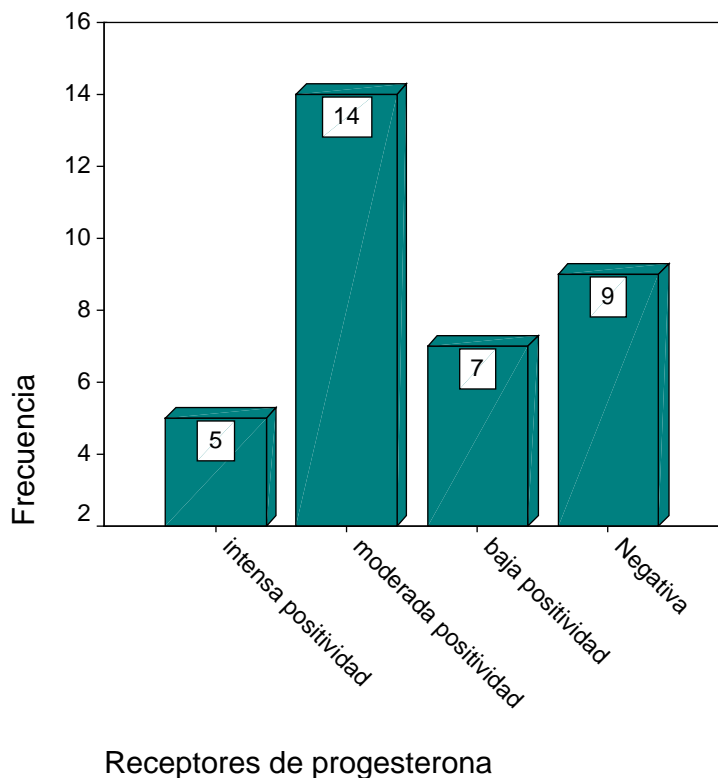
Se resumen a continuación los hallazgos más importantes referentes al estudio histológico tumoral, incluyendo la expresión de proteínas de interés particular y marcadores séricos de uso habitual en la clínica oncológica.

4.1.6.1. Receptores hormonales

Son los receptores estrogénicos (RE) y de progesterona (RP), hoy día, los principales factores pronóstico. Su determinación se ha realizado mediante métodos inmunohistoquímicos y su presencia se considera un factor pronóstico favorable. Además los RE y RP son factores predictivos de respuesta al tratamiento endocrino tanto en el cáncer de mama temprano como en el avanzado.



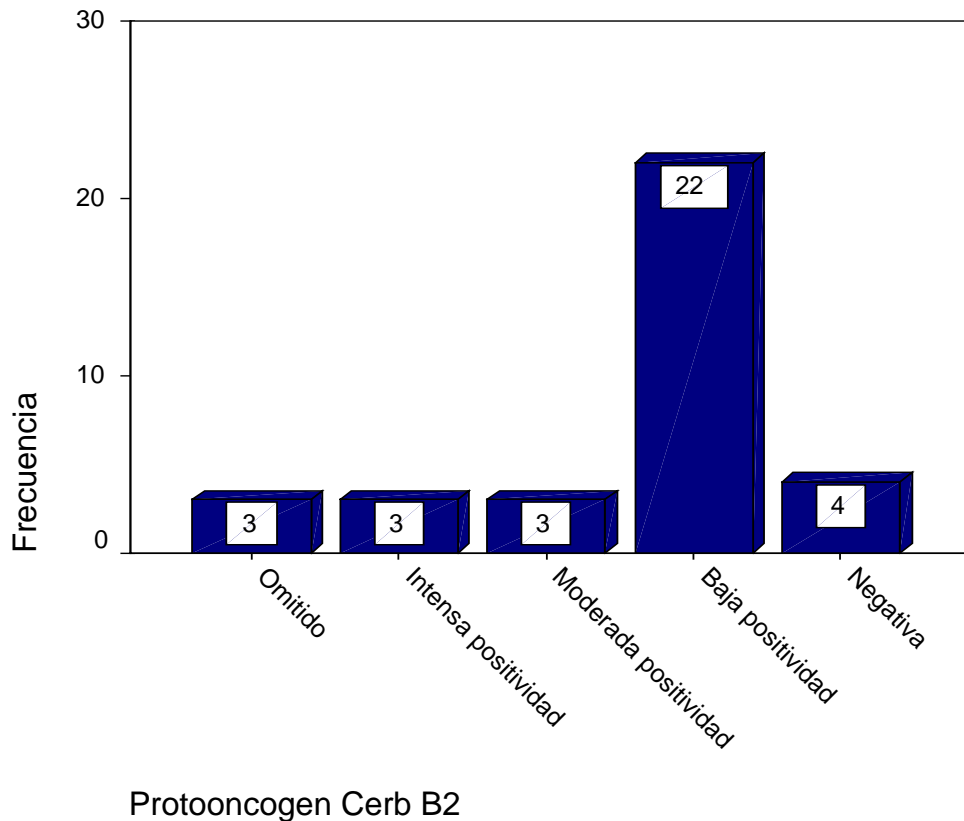
Como se muestra en el gráfico anterior, el 91,4% de las mujeres presentaron positividad para los receptores estrogénicos, siendo ésta en el 80% de los casos moderada o intensa. Estas pacientes tendrían una mejor respuesta al tratamiento, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global cuando reciben hormonoterapia. Lo mismo ocurriría para las pacientes con receptores de progesterona positivos y cuando el fenotipo tumoral es RE+ y RP+.



Las mujeres con fenotipo tumoral receptor de estrógeno negativo (8,6%) y receptor para la progesterona negativo (25,7%) tienen un porcentaje de respuesta al tratamiento hormonal inferior al 5%.

4.1.6.2. Expresión de oncogenes

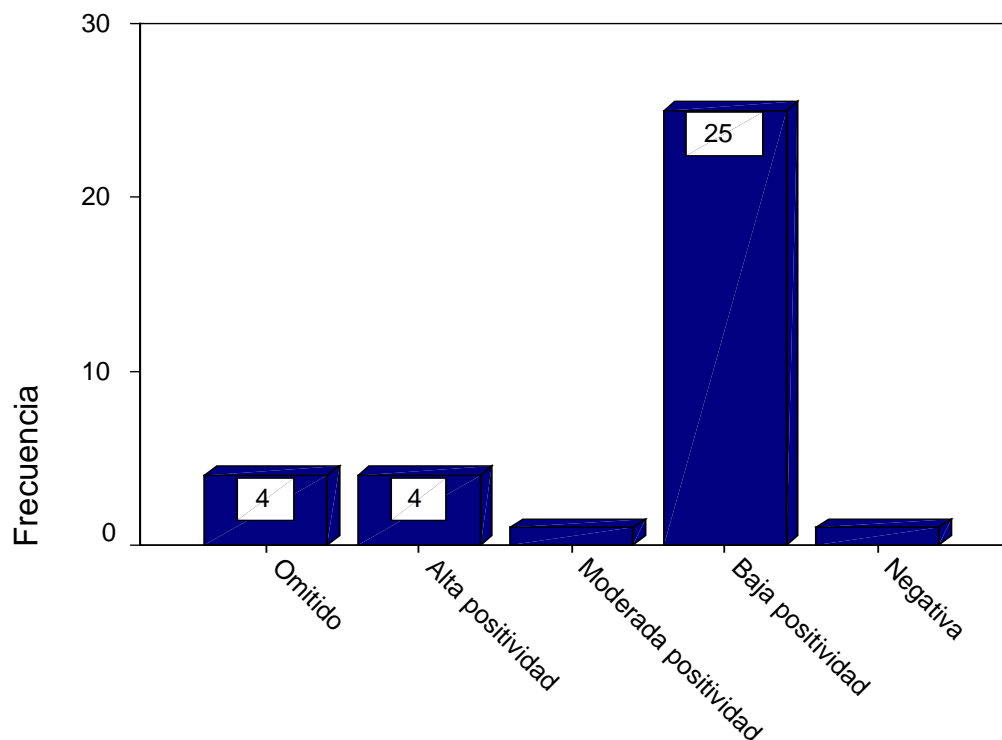
La activación de oncogenes por mutación o amplificación y la inactivación de genes reguladores se asocia con el pronóstico tumoral. En general, cualquier alteración de un protooncogén en un tumor maligno podría indicar una mayor agresividad tumoral y peor pronóstico para el devenir de la enfermedad. En la serie de pacientes se tuvo la oportunidad de estudiar la expresión del protooncogén *Cerb B2* de valor particular en cáncer de mama.



Como se presenta en el gráfico el 80% de las pacientes mostraron una sobreexpresión del protooncogén Cerb B2; sin embargo, hay que destacar que tan sólo el 17,1% presentan moderada o intensa positividad, y serían estas últimas enfermas las que tendrían un curso clínico más agresivo.

4.1.6.3. Marcadores de proliferación celular

El más comúnmente marcador de proliferación utilizado es el antígeno detectado por el anticuerpo monoclonal Ki-67. Éste es expresado en las fases S, G-2 y M del ciclo celular.

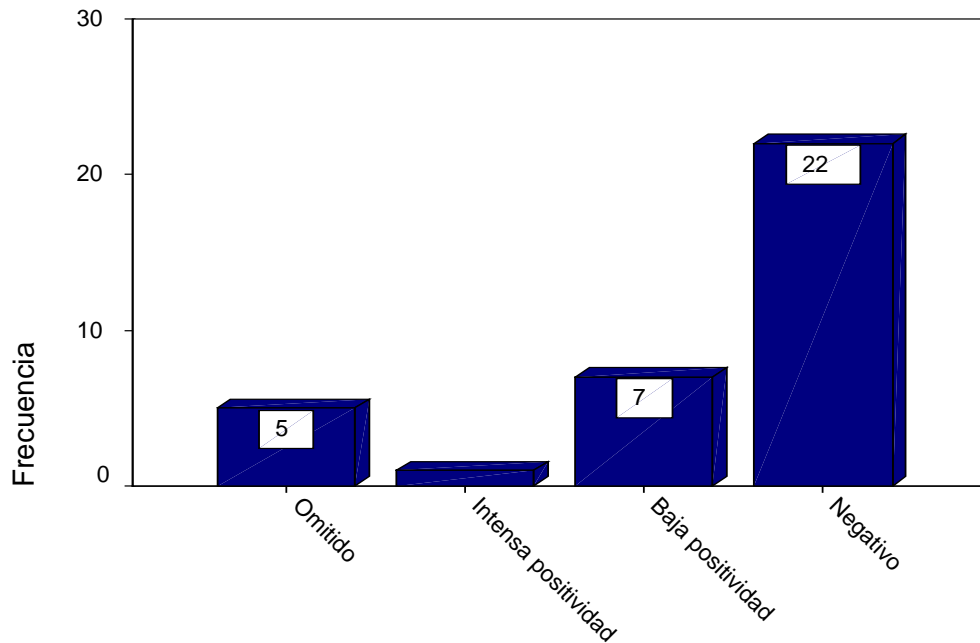


Actividad proliferativa Ki 67

En general se considera que, una mayor expresión del antígeno de proliferación celular se asocia con mayor agresividad tumoral. En la serie estudiada el 71,43% de las muestras tumorales presentaron baja positividad y tan sólo un 11,43% presentaron alta positividad en la expresión de este marcador.

4.1.6.4. Proteínas reguladoras del ciclo celular y la apoptosis

La p53 es una proteína nuclear que juega un papel importante en la supresión tumoral y puede intervenir en el control de la transcripción, ciclo celular y apoptosis. En general se considera que, la sobreexpresión o anomalías de p53 están asociadas con un peor pronóstico de la enfermedad tumoral.



p53

En la serie de pacientes incluidas en este estudio tan sólo una presentó una positividad intensa en la expresión del marcador.

4.1.6.5. Marcadores tumorales

En el seguimiento de la serie de pacientes se ha tenido la oportunidad de efectuar medidas del marcador tumoral Ca 15.3 en dos momentos durante la evolución de la enfermedad. Una primera determinación se realizó cuando la paciente fue diagnosticada de cáncer ductal infiltrante de mama. La segunda determinación se efectuó coincidiendo con la toma de muestra de grasa abdominal y la extracción de sangre a los 3 meses de la intervención quirúrgica. En este momento del tiempo las pacientes, que son sometidas a quimioterapia adyuvante, recibían el tercer ciclo de la quimioterapia.

Como es bien sabido, el marcador Ca 15.3 no es específico de cáncer de mama, ya que los niveles séricos pueden elevarse en patologías mamarias benignas, hepatopatías, enfermedades autoinmunes, sarcoidosis, tuberculosis y cánceres de pulmón, hígado y ovario. Carece de rentabilidad diagnóstica en la enfermedad precoz, pero tiene un valor particular al incrementarse los niveles circulantes en los estadios III y IV. Es útil para la detección de metástasis a

distancia durante el seguimiento y para valorar la respuesta terapéutica tras la recidiva.

Se ha observado que los niveles de Ca 15.3 se han mantenido dentro de los límites de la normalidad (0-31 UI/ml) en 33 de las 35 pacientes en las determinaciones practicadas. Una paciente mostró niveles elevados en la primera toma de muestra pero luego cayeron a límites normales en la siguiente determinación. La otra enferma tuvo niveles altos durante todo el seguimiento sin que se demostrará recidiva tumoral ni metástasis.

4.1.6.6. Colesterol y triglicéridos en suero de la población de estudio

De especial interés para los objetivos de este estudio ha sido la cuantificación de los niveles séricos de colesterol y triglicéridos como forma indirecta pero apropiada para cuantificar el contenido lipídico del suero.

Niveles séricos de Colesterol, HDL-colesterol y Triglicéridos de las pacientes al inicio del seguimiento:

	Colesterol	Trigliceridos	HDL-colesterol
Media*	184,29	122,76	55,76
Mediana*	179	115	54
Desv. típ.	32,86	49,77	14,17
Mínimo*	135	48	39
Máximo*	249	216	96

n= 17; *mg/dl

Niveles séricos de Colesterol, HDL-colesterol y Triglicéridos de las pacientes a los 3 meses de la intervención:

	Colesterol	Trigliceridos	HDL-colesterol
Media*	208,58	127,88	62,92
Mediana*	208,50	126,50	63,00
Desv. típ.	42,87	47,74	19,15
Mínimo*	133	48	6
Máximo*	308	253	96

n= 24; *mg/dl

Es importante resaltar que la mayor parte de los estudios realizados encaminados a demostrar la relación existente entre los niveles de pesticidas organoclorados en suero y el cáncer de mama, expresan los resultados de la concentración de los mismos en ng de residuo/ml de suero. Éste es uno de los puntos más discutidos, ya que, como muy bien analiza en su trabajo de 2001 la doctora Snedeker, al ser transportados los compuestos lipofílicos por la fracción

lipídica de la sangre, se deberían expresar sus niveles ajustándolos al contenido lipídico (Snedeker et al., 2001). Como posteriormente veremos en la discusión, existen trabajos en los que expresar la concentración de pesticidas en ng/ml o hacerlo ajustado por la carga lipídica en ng/g de lípido puede hacer que los resultados sean totalmente distintos, como por ejemplo, en el estudio de Helzlsouer y colaboradores de 1999, López-Carrillo y colaboradores de 1997, Romieu y colaboradores de 2000 y Wolff y colaboradores de 1993 y 2000. Esta última, encuentra una fuerte asociación positiva entre los niveles de DDE en suero y el cáncer de mama. Sin embargo, en este trabajo los niveles los expresó en ng/ml (Wolff et al., 1993). Probablemente la razón de no encontrar esa asociación en su segundo trabajo sea el ajuste de los niveles de pesticidas por la carga lipídica y expresarlo en ng/g de lípido (Wolff et al., 2000)

Por esta razón en el presente estudio se han expresado los niveles de residuos químicos en ng/ml y también corregidos por los lípidos en ng/g. Para calcular la carga lipídica se ha resuelto el siguiente algoritmo (Phillips et al., 1989):

$$\text{Lípidos totales} = 0,623 + (2,27 \times \text{Colesterol total}) + \text{Triglicéridos}$$

De esta manera para expresar los niveles de residuos químicos en ng/g de lípidos se resuelve el siguiente algoritmo:

$$\text{Concentración residuo químico en ng/g} = \frac{\text{Concentración residuo químico (ng/ml)}}{\text{Lípidos totales (mg/dl)}} \times 10^5$$

Como los lípidos vienen expresados como mg/dl, para hacer la conversión y mostrarlos en ng/g se multiplica por 10^5 .

4.1.7. RECIDIVA Y METÁSTASIS

Aunque el tiempo de seguimiento no ha sido largo, no se ha evidenciado en ningún caso diseminación a distancia ni recidiva tumoral.

4.2. EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCORADOS Y DETERMINACIÓN DE LA CARGA ESTROGÉNICA TOTAL EFECTIVA (TEXB)

4.2.1 Determinación de pesticidas organoclorados en la población de estudio

En este trabajo se ha tenido la oportunidad de cuantificar mediante técnicas cromatográficas dieciocho pesticidas organoclorados en sangre y tejido adiposo de las pacientes incluidas en el estudio. Se trata de una selección de aquellos compuestos que por su interés toxicológico, uso regional y persistencia medioambiental presentan a priori mayor interés y pueden ser un buen indicador de la exposición en la población de estudio a compuestos químicos en general.

4.2.1.1 Frecuencia de presentación y valores medios de la concentración de pesticidas organoclorados en sangre en el momento de la intervención quirúrgica

Se presentan a continuación los resultados obtenidos en la determinación de pesticidas organoclorados en sangre de las pacientes incluidas en el estudio en muestras colectadas en el momento de la intervención quirúrgica. Con objeto de poder comparar los resultados de este estudio con otros trabajos del mismo grupo y de otras publicaciones científicas se ha hecho un esfuerzo importante a la hora de expresar los resultados en las distintas formas en que habitualmente se refieren las publicaciones científicas. Por esta razón se incluyen tablas que describen los porcentajes de positividad de las muestras para los distintos residuos considerando:

- 1.- La sensibilidad de los diferentes sistemas de cromatografía
- 2.- Las variaciones en la expresión de los resultados según se ajusten las medidas de tendencia central a valores situados por debajo del límite de detección
- 3.- La expresión de los resultados en función del volumen o peso de las muestras o su contenido en componentes grasos

La tabla que se muestra a continuación recoge las frecuencias en porcentajes de muestras que dieron una señal cromatográfica mayor o igual al límite de detección (\geq LD), en la que fueron detectados los residuos sin que pudieran ser cuantificados por caer por debajo de los límites de cuantificación (LQ-LD), que pudieron ser cuantificados los residuos ($>$ LQ), y finalmente aquellos en que no se detectó señal alguna ($<$ LD) por estar el residuo ausente o encontrarse por debajo de la sensibilidad del cromatógrafo.

	\geq LD		$>$ LQ		LQ \rightarrow LD		$<$ LD	
o, p´ DDT	47,1%	(8/17)	23,5%	(4/17)	23,5%	(4/17)	52,9%	(9/17)
p, p´ DDT	94,1%	(16/17)	70,6%	(12/17)	23,5%	(4/17)	5,9%	(1/17)
o, p´ DDD	88,2%	(15/17)	82,3%	(14/17)	5,9%	(1/17)	11,8%	(2/17)
p, p´ DDE	100%	(17/17)	100%	(17/17)	----		----	
Metoxicloro	76,5%	(13/17)	76,5%	(13/17)			23,5%	(4/17)
Mirex	52,9%	(9/17)	47,1%	(8/17)	5,9%	(1/17)	47,1%	(8/17)
Lindano	70,6%	(12/17)	52,9%	(9/17)	17,7%	(3/17)	29,4%	(5/17)
HCB	82,4%	(14/17)	82,4%	(14/17)	----		17,7%	(3/17)
Vinclozolina	88,2%	(15/17)	88,2%	(15/17)	----		11,8%	(2/17)
Aldrín	88,2%	(15/17)	76,6%	(12/17)	11,8%	(2/17)	11,8%	(2/17)
Endrín	58,8%	(10/17)	35,5%	(6/17)	23,5%	(4/17)	41,2%	(7/17)
Dieldrín	76,5%	(13/17)	76,5%	(13/17)	----		23,5%	(4/17)
E-I	76,5%	(13/17)	70,6%	(12/17)	5,9%	(1/17)	23,5%	(4/17)
E-II	58,8%	(10/17)	58,8%	(10/17)	----		41,2%	(7/17)
E-eter	41,2%	(7/17)	41,2%	(7/17)	----		58,8%	(10/17)
E-lactona	41,2%	(7/17)	41,2%	(7/17)	----		58,8%	(10/17)
E-diol	76,5%	(13/17)	76,5%	(13/17)	----		23,5%	(4/17)
E-sulfato	64,7%	(11/17)	52,9%	(9/17)	11,8%	(2/17)	35,3%	(6/17)

LD: Límite detección; LQ: Límite de cuantificación; n=17

A continuación se muestran los niveles medios de pesticidas organoclorados en suero de las pacientes, expresado en ng/ml de suero, al inicio del estudio, es decir en el momento de la intervención. Para los valores <LQ de los pesticidas se ha considerado el valor 0. Se recoge la media, mediana y desviación típica para las distintas familias de pesticidas organoclorados.

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	0,16	0,71	1,02	0,95	2,75
Mediana*	0,00	0,60	1,03	0,62	2,45
Desv. típ.	0,19	0,61	0,69	0,73	1,15

* (ng/ml); n=17

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, Hexaclorobenceno (HCB) y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	0,78	0,26	0,32	0,74	1,77
Mediana*	0,82	0,25	0,29	0,72	1,59
Desv. típ.	0,48	0,28	0,32	0,50	1,31

* (ng/ml); n=17

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	0,56	0,90	0,56
Mediana*	0,61	0,75	0,45
Desv. típ.	0,32	1,70	0,55

* (ng/ml); n=17

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	0,32	0,33	0,12	1,71	1,07	0,31	4,23
Mediana*	0,26	0,50	0,00	0,00	0,90	0,25	2,50
Desv. típ.	0,34	0,29	0,15	3,94	1,02	0,31	5,17

* (ng/ml); n=17

En las siguientes tablas se recogen los niveles medios de pesticidas organoclorados en suero de las pacientes en el momento de la intervención y una vez que han sido ajustados por la carga lipídica y expresados en ng/g de lípido. Para los valores <LQ de los pesticidas se han considerado valores 0. Se recogen la media, mediana y desviación típica para las distintas familias de pesticidas organoclorados.

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	32,62	143,01	189,28	192,47	538,33
Mediana*	0,00	104,75	177,45	135,94	453,55
Desv. típ.	38,73	151,14	134,43	186,42	298,21

* (ng/g); n=17

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	146,01	50,95	62,29	138,61	335,65
Mediana*	133,32	42,30	54,63	130,56	301,14
Desv. típ.	114,94	59,89	68,94	93,21	265,73

* (ng/g); n=17

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	108,19	193,80	105,22
Mediana*	113,49	111,46	80,42
Desv. típ.	63,20	434,25	98,94

* (ng/g); n=17

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	64,48	59,96	23,94	327,34	205,82	59,97	816,25
Mediana*	42,80	74,31	0,00	0,00	163,33	45,51	416,37
Desv. típ.	83,52	56,25	32,77	743,21	221,47	64,74	995,88

* (ng/g); n=17

Se muestra a continuación los niveles medios de los pesticidas en el suero, colectado en el momento de la intervención, expresados en ng/ml de suero, asignando a los valores <LQ la mitad del límite de detección (LD).

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p' DDT	p, p' DDT	o, p' DDD	p, p' DDE	Σ DDT
Media*	0,23	0,72	1,03	0,95	2,83
Mediana*	0,13	0,60	1,03	0,62	2,57
Desv. típ.	0,14	0,60	0,67	0,73	1,14

* (ng/ml); n=17

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB (Hexaclorobenceno) y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	0,76	0,32	0,35	0,76	1,79
Mediana*	0,76	0,25	0,29	0,72	1,59
Desv. típ.	0,46	0,22	0,28	0,47	1,29

* (ng/ml); n=17

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	0,58	1,05	0,59
Mediana*	0,61	0,75	0,45
Desv. típ.	0,30	1,63	0,52

* (ng/ml); n=17

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	0,33	0,43	0,13	1,72	1,08	0,33	4,41
Mediana*	0,26	0,50	0,01	0,01	0,90	0,25	2,53
Desv. típ.	0,32	0,18	0,15	3,93	1,00	0,29	5,13

* (ng/ml); n=17

Las cuatro tablas siguientes permiten ver qué ocurre con las concentraciones de pesticidas en el suero colectadas en el momento de la intervención al ajustar por el contenido lipídico (ng/g de lípido), considerando los valores <LQ como la mitad del límite de detección (LD).

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	44,69	144,34	192,51	192,47	553,58
Mediana*	32,72	104,75	177,45	135,94	473,21
Desv. típ.	28,56	149,89	129,83	186,42	299,67

* (ng/g); n=17

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	151,18	62,31	69,13	142,99	338,32
Mediana*	133,32	42,30	54,63	130,56	301,14
Desv. típ.	108,17	50,18	63,02	86,59	262,22

* (ng/g); n=17

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	110,69	224,14	111,09
Mediana*	113,49	111,46	80,42
Desv. típ.	58,91	421,38	92,74

* (ng/g); n=17

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	67,24	80,67	25,31	328,78	208,68	64,07	850,16
Mediana*	42,80	74,31	2,54	3,17	163,33	45,51	464,01
Desv. típ.	81,39	34,84	31,72	742,53	218,70	60,85	984,77

* (ng/g); n=17

Se muestran a continuación los resultados obtenidos al cuantificar los niveles de pesticidas en las muestras de sangre colectadas en el momento de la intervención calculando los parámetros estadísticos tan sólo con aquellos valores que se situaron dentro del rango de cuantificación y expresados en ng/ml.

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	0,35	0,76	1,15	0,95	2,75
Mediana*	0,31	0,63	1,16	0,62	2,45
Desv. típ.	0,11	0,60	0,61	0,73	1,15

*(ng/ml); n=17

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB(Hexaclorobenceno) y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	0,96	0,49	0,45	0,90	2,01
Mediana*	0,97	0,47	0,30	0,78	1,63
Desv. típ.	0,32	0,17	0,29	0,40	1,20

*(ng/ml); n=17

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	0,64	1,53	0,73
Mediana*	0,68	0,85	0,56
Desv. típ.	0,26	2,02	0,52

*(ng/ml); n=17

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	0,41	0,55	0,29	4,16	1,39	0,48	4,23
Mediana*	0,30	0,50	0,28	2,46	1,06	0,39	2,50
Desv. típ.	0,33	0,12	0,07	5,43	0,95	0,27	5,17

*(ng/ml); n=17

Se presentan a continuación los parámetros estadísticos ajustados por el contenido lipídico y expresados en ng/g de lípido de las concentraciones de los distintos pesticidas en el suero al inicio de estudio considerando tan sólo los valores >LQ.

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	69,31	151,94	214,52	192,47	538,33
Mediana*	68,73	111,30	195,62	135,94	453,55
Desv. típ.	22,84	151,38	121,87	186,42	298,21

* (ng/g); n=17

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	190,93	96,23	88,25	168,31	380,40
Mediana*	159,22	78,64	65,48	143,31	322,55
Desv. típ.	91,23	47,65	66,44	72,87	249,91

* (ng/g); n=17

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	122,62	329,46	137,59
Mediana*	116,33	164,08	102,43
Desv. típ.	51,67	534,40	90,70

* (ng/g); n=17

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	84,33	101,93	58,15	794,96	269,15	92,68	816,27
Mediana*	62,03	91,88	59,95	445,13	175,85	71,20	416,37
Desv. típ.	86,53	29,52	23,31	1019,44	216,65	58,07	995,87

* (ng/g); n=17

4.2.1.2. Frecuencia de presentación y valores medios de la concentración de pesticidas organoclorados en tejido adiposo mamario en el momento de la intervención quirúrgica

De igual forma a como se ha procedido en el apartado 4.2.1.1., se muestran seguidamente las frecuencias de presentación y los parámetros de concentración (media, mediana y desviación típica) de los residuos de pesticidas organoclorados cuantificados en el tejido adiposo mamario obtenido en el momento de la intervención quirúrgica.

La tabla que se muestra a continuación recoge las frecuencias en porcentajes de muestras que dieron una señal cromatográfica (\geq LD), en la que fueron detectados los residuos sin que pudieran ser cuantificados por caer por debajo de los límites de cuantificación (LQ-LD), que pudieron ser cuantificados los residuos ($>$ LQ), y finalmente aquellos en que no se detectó señal alguna ($<$ LD) por estar el residuo ausente o encontrarse por debajo de la sensibilidad del cromatógrafo.

	\geq LD		$>$ LQ		LQ \rightarrow LD		$<$ LD	
o, p' DDT	97,1%	(34/35)	88,6%	(31/35)	8,5%	(3/35)	2,9%	(1/35)
p, p' DDT	97,1%	(34/35)	74,3%	(26/35)	22,8%	(8/35)	2,9%	(1/35)
o, p' DDD	91,4%	(32/35)	60%	(21/35)	31,5%	(11/35)	8,5%	(3/35)
p, p' DDE	100%	(35/35)	100%	(35/35)	----		----	
Metoxicloro	94,3%	(33/35)	88,6%	(31/35)	5,7%	(2/35)	5,7%	(2/35)
Mirex	74,3%	(26/35)	60%	(21/35)	14,3%	(5/35)	25,7%	(9/35)
Lindano	100%	(35/35)	94,3%	(33/35)	5,7%	(2/35)	----	
HCB	100%	(35/35)	97,1%	(34/35)	2,9%	(1/35)	----	
Vinclozolina	74,2%	(26/35)	74,2%	(26/35)	----		25,7%	(9/35)
Aldrín	100%	(35/35)	45,7%	(16/35)	54,3%	(19/35)	----	
Endrín	100%	(35/35)	88,6%	(31/35)	11,4%	(4/35)	----	
Dieldrín	94,3%	(33/35)	80%	(28/35)	14,3%	(5/35)	5,7%	(2/35)
E-I	100%	(35/35)	88,6%	(31/35)	11,4%	(4/35)	----	
E-II	91,4%	(32/35)	51,5%	(18/35)	40%	(14/35)	8,5%	(3/35)
Eeter	65,7%	(23/35)	65,7%	(23/35)	----		34,3%	(12/35)
Elactona	77,2%	(27/35)	77,2%	(27/35)	----		22,8%	(8/35)
Ediol	88,6%	(31/35)	88,6%	(31/35)	----		11,4%	(4/35)
Esulfato	85,7%	(30/35)	57,1%	(20/35)	28,6%	(10/35)	14,3%	(5/35)

LD: Límite detección; LQ: Límite cuantificación; n=35

A continuación se muestran los parámetros estadísticos de los niveles de los residuos medidos en el tejido graso mamario y considerando aquellos valores <LQ como valores 0.

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	10,73	34,96	114,09	416,69	571,11
Mediana*	9,15	18,79	22,98	393,10	506,54
Desv. típ.	8,94	35,74	173,61	258,38	----

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB(Hexaclorobenceno) y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	22,64	25,78	35,67	176,23	35,97
Mediana*	19,12	10,62	19,80	138,17	13,09
Desv. típ.	20,60	45,83	101,83	192,13	47,77

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	6,31	62,05	23,25
Mediana*	0,20	19,21	11,87
Desv. típ.	7,38	99,53	35,12

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	20,35	5,08	2,67	12,78	52,36	21,67	123,16
Mediana*	14,76	2,59	1,74	3,75	37,25	3,91	82,27
Desv. típ.	24,71	7,91	2,83	25,31	78,46	42,17	127,83

* (ng/g grasa); n=35

Se muestran en estas tablas siguientes los resultados de los valores medios, medianas y desviaciones típicas de los pesticidas medidos en tejido graso mamario considerando los valores <LQ como la mitad del límite de detección (LD).

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	10,74	34,96	114,10	416,69	571,13
Mediana*	9,15	18,79	22,98	393,10	506,54
Desv. típ.	8,94	35,73	173,60	258,38	353,33

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	22,65	25,81	35,67	176,23	36,00
Mediana*	19,12	10,62	19,80	138,17	13,09
Desv. típ.	20,59	45,81	101,83	192,13	47,75

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	6,31	62,05	23,25
Mediana*	0,20	19,21	11,87
Desv. típ.	7,38	99,53	35,11

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	20,35	5,10	2,68	12,78	52,37	21,68	123,20
Mediana*	14,76	2,59	1,74	3,75	37,25	3,91	82,29
Desv. típ.	24,71	7,90	2,83	25,31	78,46	42,17	127,85

* (ng/g grasa); n=35

A continuación se muestran las tablas que recogen los resultados de los niveles de los distintos pesticidas medidos en tejido adiposo mamario de las participantes en el momento de la intervención considerando tan sólo los valores >LQ.

Niveles de DDT y sus metabolitos

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	11,05	35,99	124,79	416,69	571,11
Mediana*	9,51	24,09	45,01	393,10	506,54
Desv. típ.	8,87	35,74	177,98	258,38	----

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB (Hexaclorobenceno) y Vinclozolina

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	24,01	34,71	35,67	176,23	48,42
Mediana*	21,48	18,90	19,80	138,17	31,09
Desv. típ.	20,42	50,34	101,83	192,13	49,76

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	6,31	62,05	24,66
Mediana*	0,20	19,21	15,42
Desv. típ.	7,38	99,53	35,70

* (ng/g grasa); n=35

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	20,35	5,56	4,07	16,57	59,12	25,28	123,16
Mediana*	14,76	2,80	3,04	5,44	39,88	8,41	82,27
Desv. típ.	24,71	8,12	2,54	27,80	81,02	44,62	127,83

* (ng/g grasa); n=35

4.2.1.3. Frecuencia de presentación y valores medios de la concentración de pesticidas organoclorados en sangre a los 3 meses de la intervención quirúrgica

El seguimiento programado en este trabajo incluyó la toma de una nueva muestra de sangre pasados tres meses de la intervención quirúrgica por cáncer de mama, a la vez que se aplicaba el protocolo de evaluación clínica diseñado. En la tabla siguiente se muestran las frecuencias en porcentajes de muestras que dieron una señal cromatográfica (\geq LD), en la que fueron detectados los residuos sin que pudieran ser cuantificados por caer por debajo de los límites de cuantificación (LQ-LD), que pudieron ser cuantificados los residuos ($>$ LQ), y finalmente aquellos en que no se detectó señal alguna ($<$ LD) por estar el residuo ausente o encontrarse por debajo de la sensibilidad del cromatógrafo.

	\geq LD		$>$ LQ		LQ \rightarrow LD		$<$ LD	
o, p´ DDT	37,5%	(9/24)	20,8%	(5/24)	16,7%	(4/24)	62,5%	(15/24)
p, p´ DDT	66,7%	(16/24)	54,2%	(13/24)	12,5%	(3/24)	33,3%	(8/24)
o, p´ DDD	91,7%	(22/24)	83,4%	(20/24)	8,3%	(2/24)	8,3%	(2/24)
p, p´ DDE	100%	(24/24)	100%	(24/24)	----		----	
Metoxicloro	87,5%	(21/24)	87,5%	(21/24)	----		12,5%	(3/24)
Mirex	54,2%	(13/24)	54,2%	(13/24)	----		45,8%	(11/24)
Lindano	54,2%	(13/24)	47,1%	(10/24)	12,5%	(3/24)	45,8%	(11/24)
HCB	91,7%	(22/24)	87,6%	(21/24)	4,1%	(1/24)	8,3%	(2/24)
Vinclozolina	91,7%	(22/24)	91,7%	(22/24)	----		8,3%	(2/24)
Aldrín	70,8%	(17/24)	70,8%	(17/24)	----		29,2%	(7/24)
Endrín	37,5%	(9/24)	25%	(6/24)	12,5%	(3/24)	62,6%	(15/24)
Dieldrín	70,5%	(17/24)	62,6%	(15/24)	8,3%	(2/24)	29,2%	(7/24)
E-I	79,3%	(19/24)	79,3%	(19/24)			20,8%	(5/24)
E-II	54,2%	(13/24)	25%	(6/24)	29,2%	(7/24)	45,8%	(11/24)
Eeter	20,8%	(5/24)	20,8%	(5/24)	----		79,2%	(19/24)
Elactona	41,7%	(10/24)	41,7%	(10/24)	----		58,3%	(14/24)
Ediol	75%	(18/24)	75%	(18/24)	----		25%	(6/24)
Esulfato	66,7%	(16/24)	66,7%	(16/24)	----		33,3%	(8/24)

HCB (Hexaclorobenceno); LD: Límite detección; LQ: Límite cuantificación; n=24

Se recogen a continuación los resultados de los niveles de residuos organoclorados en el suero de las participantes en las muestras sanguíneas obtenidas a los 3 meses de ser intervenidas quirúrgicamente y expresados como ng/ml dándole el valor 0 a las determinaciones por debajo del LQ

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	0,12	0,65	0,96	0,90	2,55
Mediana*	0,00	0,47	0,87	0,78	2,50
Desv. típ.	0,16	0,66	0,58	0,50	0,81

*(ng/ml); n=24

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	0,73	0,40	0,21	0,73	1,71
Mediana*	0,75	0,34	0,25	0,51	1,51
Desv. Típ.	0,41	0,50	0,24	0,51	1,26

*(ng/ml); n=24

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	0,42	0,33	0,44
Mediana*	0,47	0,00	0,35
Desv. típ.	0,33	0,46	0,44

*(ng/ml); n=24

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	0,26	0,33	0,09	0,51	0,92	0,38	2,69
Mediana*	0,24	0,50	0,00	0,00	0,96	0,29	2,57
Desv. típ.	0,22	0,34	0,20	1,12	0,69	0,45	2,37

*(ng/ml); n=24

En las siguientes cuatro tablas se muestran los resultados de las concentraciones de los distintos grupos de pesticidas en el suero de las pacientes a los 3 meses del seguimiento y ajustadas por la carga lipídica y expresadas en ng/g de lípido considerando los valores <LQ como valores 0.

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	19,98	116,05	169,53	151,38	442,05
Mediana*	0,00	78,30	159,96	129,27	439,14
Desv. típ.	27,68	121,29	109,99	79,13	176,53

* (ng/g grasa); n=24

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	127,42	71,71	37,18	122,83	307,38
Mediana*	115,19	58,42	36,17	90,10	277,86
Desv. típ.	83,28	91,54	44,99	88,56	263,37

* (ng/g grasa); n=24

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	72,59	53,29	74,88
Mediana*	73,50	0,00	58,93
Desv. típ.	61,50	72,05	75,54

* (ng/g grasa); n=24

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfán
Media*	44,82	56,90	17,82	96,78	157,58	67,92	476,53
Mediana*	40,62	71,14	0,00	0,00	162,18	46,87	415,84
Desv. típ.	39,68	60,84	40,21	243,72	120,82	97,89	521,65

* (ng/g grasa); n=24

Resultados de los niveles de residuos en el suero de las participantes a los 3 meses de iniciar el estudio expresados en ng/ml y considerando los valores <LQ como la mitad del límite de detección (LD).

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	0,20	0,69	0,98	0,90	2,67
Mediana*	0,13	0,47	0,87	0,78	2,71
Desv. típ.	0,10	0,62	0,56	0,50	0,79

* (ng/ml); n=24

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	0,74	0,45	0,27	0,79	1,72
Mediana*	0,75	0,34	0,25	0,54	1,51
Desv. típ.	0,38	0,46	0,19	0,48	1,24

* (ng/ml); n=24

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	0,45	0,56	0,47
Mediana*	0,47	0,38	0,35
Desv. típ.	0,28	0,29	0,41

* (ng/ml); n=24

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	0,28	0,44	0,10	0,52	0,93	0,40	2,87
Mediana*	0,24	0,50	0,01	0,01	0,96	0,29	2,61
Desv. típ.	0,21	0,23	0,19	1,12	0,67	0,43	2,26

* (ng/ml); n=24

Al ajustar los niveles de pesticidas por la carga lipídica y expresar los resultados en ng/g de grasa, se obtienen los resultados mostrados a continuación que corresponden a las pacientes a los 3 meses de la operación quirúrgica y considerando nuevamente los valores <LQ como la mitad del límite de detección (LD).

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	33,57	122,98	171,40	151,38	462,33
Mediana*	24,95	78,30	159,96	129,27	455,63
Desv. típ.	18,03	114,61	107,15	79,13	176,42

* (ng/g grasa); n=24

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	130,22	80,99	46,83	124,59	308,94
Mediana*	115,19	58,42	36,17	90,10	277,86
Desv. típ.	79,06	84,28	37,35	86,19	261,52

* (ng/g grasa); n=24

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	78,84	94,14	80,94
Mediana*	73,50	72,80	58,93
Desv. típ.	54,18	42,10	69,69

* (ng/g grasa); n=24

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	47,21	76,31	19,47	98,04	160,15	71,47	508,03
Mediana*	40,62	71,14	2,14	2,61	162,18	46,87	430,48
Desv. típ.	37,07	43,38	39,45	243,20	117,36	95,43	506,26

* (ng/g grasa); n=24

Se muestran a continuación los resultados de los niveles de pesticidas en el suero de las pacientes a los 3 meses de la intervención expresados en ng/ml y considerando tan sólo los valores cuantificables (>LQ).

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p' DDT	p, p' DDT	o, p' DDD	p, p' DDE	Σ DDT
Media*	0,32	0,98	1,05	0,90	2,55
Mediana*	0,35	0,94	0,93	0,78	2,50
Desv. típ.	0,07	0,57	0,52	0,50	0,81

*ng/ml; n=24

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB (Hexaclorobenceno) y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	0,83	0,73	0,39	0,79	1,86
Mediana*	0,82	0,56	0,35	0,54	1,70
Desv. típ.	0,32	0,47	0,18	0,48	1,19

*ng/ml; n=24

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	0,59	0,88	0,62
Mediana*	0,54	0,82	0,60
Desv. típ.	0,21	0,26	0,40

* ng/ml; n=24

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfán
Media*	0,33	0,61	0,44	1,23	1,23	0,56	2,52
Mediana*	0,26	0,50	0,43	0,50	1,21	0,43	2,34
Desv. típ.	0,20	0,19	0,19	1,49	0,50	0,44	2,42

* ng/ml; n=24

Se muestran a continuación los resultados de los niveles de pesticidas en el suero de las pacientes a los 3 meses de ser operadas, ajustados por la carga lipídica (ng/g de lípido) y considerando tan sólo los valores cuantificables (>LQ).

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	53,27	174,08	184,95	151,38	442,05
Mediana*	57,87	173,50	185,66	129,27	439,14
Desv. típ.	14,38	108,55	101,31	79,13	176,53

* ng/g grasa; n=24

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	145,63	132,38	68,63	134,00	335,32
Mediana*	124,86	92,05	62,83	96,54	289,30
Desv. típ.	72,06	85,79	39,26	83,80	257,20

* ng/g grasa; n=24

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	102,48	143,44	105,72
Mediana*	83,66	143,75	98,05
Desv. típ.	46,71	25,82	68,84

* ng/g grasa; n=24

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	56,61	105,05	85,55	232,27	210,11	101,88	469,08
Mediana*	42,02	91,65	79,59	86,18	199,58	79,86	393,56
Desv. típ.	36,15	40,19	45,33	341,81	89,79	104,89	538,92

* ng/g grasa; n=24

4.2.1.4. Determinación de pesticidas organoclorados en el tejido adiposo abdominal a los 3 meses de iniciado el estudio

El protocolo de trabajo diseñado indica la obtención de una muestra de tejido adiposo abdominal que se realizaba a los 3 meses de la intervención quirúrgica, en el curso de la visita programada en el seguimiento de las pacientes.

En la tabla siguiente se muestran las frecuencias en porcentajes de muestras que dieron una señal cromatográfica (\geq LD), en la que fueron detectados los residuos sin que pudieran ser cuantificados por caer por debajo de los límites de cuantificación (LQ-LD), que pudieron ser cuantificados los residuos ($>$ LQ), y finalmente aquellos en que no se detectó señal alguna ($<$ LD) por estar el residuo ausente o encontrarse por debajo de la sensibilidad del cromatógrafo.

	\geq LD	$>$ LQ	LQ \rightarrow LD	$<$ LD
o, p´ DDT	88,6% (31/34)	65,7% (23/35)	22,8% (8/35)	11,4% (4/35)
p, p´ DDT	91,4% (32/35)	71,4% (25/35)	20,1% (7/35)	8,5% (3/35)
o, p´ DDD	80% (28/35)	42,9% (15/35)	37,2% (13/35)	20,1% (7/35)
p, p´ DDE	100% (35/35)	100% (35/35)	----	----
Metoxicloro	82,9% (29/35)	68,6% (24/35)	14,3% (5/35)	17,1% (6/35)
Mirex	57,1% (20/35)	42,9% (15/35)	14,3% (5/35)	42,9% (15/35)
Lindano	97,1% (34/35)	85,7% (30/35)	11,4% (4/35)	2,9% (1/35)
HCB	100% (35/35)	100% (35/35)	----	----
Vinclozolina	80% (28/35)	80% (28/35)	----	20,1% (7/35)
Aldrín	94,3% (33/35)	37,2% (13/35)	57,1% (20/35)	5,7% (2/35)
Endrín	97,1% (34/35)	74,3% (26/35)	22,8% (8/35)	2,9% (1/35)
Dieldrín	94,3% (33/35)	62,8% (22/35)	31,5% (11/35)	5,7% (2/35)
E-I	97,1% (34/35)	68,6% (24/35)	28,5% (10/35)	2,9% (1/35)
E-II	91,4% (32/35)	20,1% (7/35)	71,4% (25/35)	8,5% (3/35)
Eeter	71,4% (25/35)	71,4% (25/35)	----	28,5% (10/35)
Elactona	82,9% (29/35)	82,9% (29/35)	----	17,1% (6/35)
Ediol	60% (21/35)	60% (21/35)	----	40% (14/35)
Esulfato	94,3% (33/35)	45,7% (16/35)	48,6% (17/35)	5,7% (2/35)

HCB (Hexaclorobenceno); LD: Límite detección; LQ: Límite cuantificación; n=35

Los siguientes resultados recogen los parámetros estadísticos de las medidas de pesticidas en tejido adiposo abdominal de las pacientes a los 3 meses de ser intervenidas quirúrgicamente tomando los valores <LQ como valores 0.

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	8,75	34,44	57,79	329,06	425,29
Mediana*	2,80	19,66	0,20	274,88	392,94
Desv. típ.	15,13	39,23	100,48	205,45	250

* (ng/g); n=35

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	18,18	11,11	20,62	147,08	58,41
Mediana*	9,81	0,20	19,15	117,88	35,84
Desv. típ.	19,61	14,89	14,82	104,88	74,54

* (ng/g); n=35

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	7,58	56,50	15,60
Mediana*	0,20	21,55	12,01
Desv. típ.	9,98	89,14	17,38

* (ng/g); n=35

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	15,42	3,13	4,55	29,02	29,50	10,17	98,78
Mediana*	5,17	0,40	2,83	4,93	17,94	0,10	74,87
Desv. típ.	25,79	6,89	7,62	51,87	36,58	14,90	88,29

* (ng/g); n=35

Las tablas siguientes muestran los resultados de los niveles pesticidas organoclorados cuantificados en el tejido adiposo abdominal de las pacientes a los 3 meses de la intervención considerando los valores <LQ como la mitad del límite de detección (LD).

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	8,76	34,45	57,81	329,06	425,32
Mediana*	2,80	19,66	0,20	274,88	392,94
Desv. típ.	15,13	39,22	100,46	205,45	---

* (ng/g); n=35

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	18,20	11,15	20,62	147,08	58,43
Mediana*	9,81	0,20	19,15	117,88	35,84
Desv. típ.	19,60	14,85	14,82	104,88	74,52

* (ng/g); n=35

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	7,58	56,51	15,60
Mediana*	0,20	21,55	12,01
Desv. típ.	9,98	89,13	17,38

* (ng/g); n=35

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	15,42	3,15	4,56	29,02	29,52	10,17	98,56
Mediana*	5,17	0,40	2,83	4,93	17,94	0,10	74,92
Desv. típ.	25,79	6,88	7,62	51,87	36,56	14,90	88,33

* (ng/g); n=35

Se muestran por último los resultados obtenidos para los niveles de pesticidas organoclorados en el tejido adiposo abdominal de las pacientes a los 3 meses de comenzado el estudio tan sólo para valores >LQ.

Niveles de DDT y sus metabolitos a los 3 meses de la intervención

	o, p´ DDT	p, p´ DDT	o, p´ DDD	p, p´ DDE	Σ DDT
Media*	10,21	39,64	69,76	338,65	437,43
Mediana*	4,35	23,16	3,37	303,49	401,52
Desv. típ.	15,60	40,51	106,74	207,54	249,78

* (ng/g); n=35

Niveles de Metoxicloro, Mirex, Lindano, HCB y Vinclozolina a los 3 meses de la intervención

	Metoxicloro	Mirex	Lindano	HCB	Vinclozolina
Media*	21,48	20,04	21,24	148,77	79,55
Mediana*	17,96	20,97	19,16	117,88	46,11
Desv. típ.	19,46	15,07	14,38	106,80	82,32

* (ng/g); n=35

Niveles de Aldrín, Endrín y Dieldrín a los 3 meses de la intervención

	Aldrín	Endrín	Dieldrín
Media*	7,72	59,04	16,68
Mediana*	0,20	23,79	12,81
Desv. típ.	9,79	88,75	17,57

* (ng/g); n=35

Niveles de E-I, E-II, E-eter, E-lactona, E-diol, E-sulfato y Σ endosulfán a los 3 meses de la intervención

	E-I	E-II	Eeter	Elactona	Ediol	Esulfato	Σ endosulfan
Media*	15,34	2,95	6,14	34,51	49,16	10,79	98,51
Mediana*	5,07	0,40	4,86	12,45	45,22	0,10	79,38
Desv. típ.	26,17	6,82	8,33	55,27	35,49	15,14	89,29

* (ng/g); n=35

4.2.2. Determinación de la carga estrogénica total efectiva (TEXB)

Como se ha indicado en la sección de Introducción de este trabajo, una forma de expresar la exposición a compuestos químicos con actividad hormonal es el uso de biomarcadores de efecto. Con este objeto, se ha incluido la estimación de la carga estrogénica total efectiva (TEXB), que cuantifica la estrogénicidad de los extractos de tejido adiposo y la expresa en términos cuantitativos como equivalentes de estradiol, con idéntico efecto en el bioensayo. Se muestran a continuación los valores de esos equivalentes de estradiol (Eeq) para las dos fracciones cromatográficas obtenidas para cada muestra de grasa analizada. La carga estrogénica de la fracción alfa está directamente relacionada con la presencia de compuestos organohalogenados bioacumulables, mientras que los estrógenos endógenos predominan en la fracción beta.

La tabla siguiente presenta los valores de TEXB expresados en Eeq por volumen de extracto y ajustados por el contenido lipídico de la totalidad de las muestras analizadas, considerando como valor 0 aquellos situados por debajo del límite de cuantificación.

	Alfa (Eeq/ml)	Beta (Eeq/ml)	% Lípidos	Alfa (Eeq/gr)	Beta (Eeq/gr)
Media	151,09	138,17	73,56	319,32	304,99
Mediana	0,39	2,19	74,71	1,23	6,70
Desv. típ.	618,55	781,63	12,49	1305,11	1721,83
Mínimo	0,00	0,00	15,93	0,00	0,00
Máximo	2630,00	4630,00	90,66	5760,00	10200,00

Fracción α y β . Porcentaje lipídico

En la tabla siguiente se presentan los valores de TEXB expresados en Eeq por volumen de extracto y ajustados por el contenido lipídico de las muestras cuantificables, asignando un valor igual a la mitad del límite de detección a los valores <LQ.

	Alfa (Eeq/ml)	Beta (Eeq/ml)	% Lípidos	Alfa (Eeq/gr)	Beta (Eeq/gr)
Media	151,11	138,18	73,56	319,35	304,99
Mediana	0,39	2,19	74,71	1,23	6,70
Desv. típ.	618,55	781,63	12,49	1305,10	1721,83
Mínimo	0,05	0,05	15,93	0,10	0,10
Máximo	2630,00	4630,00	90,66	5760,00	10200,00

Fracción α y β . Porcentaje lipídico

En la siguiente tabla se muestran los valores de TEXB expresados en Eeq por volumen de extracto y ajustados por el contenido lipídico de las muestras cuantificables (>LQ).

	Alfa (Eeq/ml)	Beta (Eeq/ml)	% Lípidos	Alfa (Eeq/gr)	Beta (Eeq/gr)
n					
>LQ	22	33	35	22	33
<LQ	13	2	0	13	2
Media	240,37	146,55	73,56	508,01	323,47
Mediana	1,03	2,22	74,71	2,39	9,00
Desv. típ.	772,64	804,90	12,49	1630,13	1773,09
Mínimo	0,10	0,10	15,93	0,20	0,20
Máximo	2630,00	4630,00	90,66	5760,00	10200,00

Fracción α y β . Porcentaje lipídico

El protocolo diseñado incluía también la medida de la carga estrogénica total efectiva (TEXB) en las muestras de tejido adiposo abdominal obtenidas a los tres meses de la intervención quirúrgica.

La tabla siguiente presenta los valores de TEXB expresados en Eeq por volumen de extracto y ajustados por el contenido lipídico de la totalidad de las muestras analizadas, considerando como valor 0 aquellos situados por debajo del límite de cuantificación.

	Alfa (Eeq/ml)	Beta (Eeq/ml)	% Lípidos	Alfa (Eeq/gr)	Beta (Eeq/gr)
Media	1,46	19,00	70,14	8,43	127,11
Mediana	0,50	3,05	71,93	1,99	13,06
Desv. típ.	2,96	42,99	6,16	17,56	345,43
Mínimo	0,00	0,37	57,28	0,00	0,76
Máximo	15,00	223,00	83,96	90,00	1910,00

Fracción α y β . Porcentaje lipídico

En la tabla siguiente se presentan los valores de TEXB expresados en Eeq por volumen de extracto y ajustados por el contenido lipídico de las muestras cuantificables, asignando un valor igual a la mitad del límite de detección a los valores <LQ.

	Alfa (Eeq/ml)	Beta (Eeq/ml)	% Lípidos	Alfa (Eeq/gr)	Beta (Eeq/gr)
Media	1,48	19,00	70,14	8,45	127,11
Mediana	0,50	3,05	71,93	1,99	13,06
Desv. típ.	2,96	42,99	6,16	17,55	345,43
Mínimo	0,05	0,37	57,28	0,10	0,76
Máximo	15,00	223,00	83,96	90,00	1910,00

Fracción α y β . Porcentaje lipídico

En la siguiente tabla se muestran los valores de TEXTB expresados en Eeq por volumen de extracto y ajustados por el contenido lipídico de las muestras cuantificables (>LQ).

		Alfa (Eeq/ml)	Beta (Eeq/ml)	% Lípidos	Alfa (Eeq/gr)	Beta (Eeq/gr)
n	>LQ	27	35	35	27	35
	<LQ	8	0	0	8	0
Media		1,90	19,00	70,14	10,93	127,11
Mediana		1,00	3,05	71,93	5,39	13,06
Desv. tip.		3,26	42,99	6,16	19,36	345,43
Mínimo		0,10	0,37	57,28	0,36	0,76
Máximo		15,00	223,00	83,96	90,00	1910,00

Fracción α y β . Porcentaje lipídico

4.3. ESTUDIO ESTADÍSTICO BIVARIANTE DE LA EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCORADOS Y LAS VARIABLES DE ESTUDIO EN EL MOMENTO DE LA INTERVENCIÓN QUIRÚRGICA

La estimación de la exposición a compuestos químicos contaminantes medioambientales y particularmente pesticidas organoclorados, podría verse seriamente comprometida si se considera el gran número de compuestos químicos presentes en el medioambiente. Para resolver la imposibilidad técnica, económica y ética de incluir un número muy extenso de residuos a cuantificar, en este trabajo se han seleccionado aquellos que creemos pueden representar la exposición más frecuente o de mayor interés biológico. Igualmente, de entre los 18 compuestos determinados, se han escogido nueve que por su especial relevancia en el estudio estadístico de asociación de variables pueden responder mejor a los objetivos de este trabajo. En todos los casos se han empleado los valores medios estimados considerando tan sólo los valores situados por encima del límite de cuantificación.

4.3.1. Asociación entre distintos pesticidas organoclorados

En primer lugar, con objeto de analizar la relación entre unos pesticidas y otros al inicio del estudio, se ha aplicado el test de correlación de Pearson obteniéndose los resultados que se muestran a continuación.

La tabla siguiente muestra la correlación entre los niveles iniciales de o, p´DDT, p, p´DDT, p, p DDE y Σ DDT en suero y los niveles del resto de pesticidas en suero al comienzo del estudio expresados en ng/ml.

	o, p´ DDT			p, p´ DDT			p, p´ DDE		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	----	----	----	8	-0,133	0,754	8	0,041	0,923
p, p´ DDE	8	0,041	0,923	16	0,146	0,589	----	----	----
Σ DDT	8	0,092	0,829	16	0,660	0,005	17	0,552	0,021
HCB	8	0,440	0,270	13	0,166	0,587	14	0,579	0,030
Lindano	7	-0,121	0,797	11	0,498	0,119	12	0,815	0,001
Aldrin	8	0,558	0,151	14	0,531	0,050	15	0,279	0,313
Endrin	7	-0,474	0,283	10	0,418	0,229	10	0,828	0,003
Dieldrin	6	-0,190	0,718	12	0,084	0,796	13	0,148	0,629
E-I	8	0,214	0,611	12	0,531	0,075	13	0,648	0,017
Σ Endosulfan	8	0,242	0,563	16	-0,447	0,082	17	0,411	0,101

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

Como se observa en la tabla cuanto mayor es la concentración de p, p´DDT en suero inicialmente, también es mayor la concentración en suero al comienzo del seguimiento de Σ DDT, lindano, aldrín, endosulfán α y menor la concentración de la Σ endosulfán ($p=0,005$, $p=0,119$, $p=0,051$, $p=0,075$ y $p=0,082$, respectivamente). Como se puede observar son asociaciones estadísticamente significativas salvo para endosulfán α y Σ endosulfán, donde sólo encontramos indicios de significación estadística.

En lo que respecta a o, p´DDT no apreciamos asociación entre los niveles iniciales en suero de o, p´DDT y los niveles del resto de pesticidas expresados en ng/ml.

Por otra parte, conforme aumenta la concentración en suero al inicio del seguimiento de p, p´DDE, mayores son los niveles iniciales en suero de Σ DDT, HCB, lindano, endrín, endosulfán α y Σ endosulfán. Todas estas correlaciones son estadísticamente significativas ($p=0,021$, $p=0,030$, $p=0,001$, $p=0,003$, $p=0,017$, respectivamente), salvo para la última asociación, donde tenemos indicios de significación estadística ($p=0,101$).

	Σ DDT		
	n	r	p
α, p' DDT	8	0,092	0,829
p, p' DDE	17	0,552	0,021
Σ DDT	----	----	----
HCB	14	0,426	0,128
Lindano	12	0,599	0,040
Aldrin	15	0,726	0,002
Endrin	10	0,527	0,118
Dieldrin	13	0,341	0,254
E-I	13	0,702	0,007
Σ Endosulfan	17	0,138	0,596

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

De forma particular son interesantes los resultados que se observan en la tabla anterior, ya que cuanto mayor es la concentración de Σ DDT al comienzo del estudio en el suero de las pacientes más elevadas son también las concentraciones iniciales de p, p' DDE, HCB, lindano, aldrín, endrín y endosulfán α . Las asociaciones positivas son estadísticamente significativas ($p=0,021$, $p=0,040$, $p=0,002$, $p=0,007$), excepto para los niveles de HCB ($p=0,128$) y para los niveles de endrín ($p=0,118$).

La tabla siguiente muestra la correlación entre los niveles iniciales de HCB y lindano en suero y los niveles del resto de pesticidas en suero al comienzo del estudio expresados en ng/ml.

	HCB			Lindano		
	n	r	p	n	r	p
α, p' DDT	8	0,440	0,270	7	-0,121	0,797
p, p' DDE	14	0,579	0,030	12	0,815	0,001
Σ DDT	14	0,426	0,128	12	0,599	0,040
HCB	----	----	----	12	0,557	0,060
Lindano	12	0,557	0,060	----	----	----
Aldrin	13	0,322	0,284	12	0,561	0,058
Endrin	10	-0,138	0,703	9	0,716	0,030
Dieldrin	11	0,108	0,752	9	0,467	0,205
E-I	13	0,136	0,659	12	0,567	0,055
Σ Endosulfan	14	-0,010	0,973	12	-0,037	0,908

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

Existe asociación positiva entre los niveles iniciales en suero de hexaclorobenceno y los niveles iniciales de lindano, de manera que cuanto mayor es la concentración al principio de HCB también son mayores los niveles

iniciales de lindano ($p=0,060$). Si prestamos atención a los niveles de lindano, cuanto mayor es la concentración de este pesticida medido en suero al comenzar el estudio, también son mayores las concentraciones de aldrín, endrín y endosulfán α ($p=0,058$, $p=0,030$ y $p=0,055$, respectivamente).

La tabla siguiente muestra la correlación entre los niveles iniciales de aldrín, endrín y dieldrín en suero y los niveles del resto de pesticidas en suero al comienzo del estudio expresados en ng/ml.

	Aldrin			Endrin			Dieldrin		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
Endrin	10	0,098	0,787	----	----	----	7	0,195	0,675
Dieldrin	11	0,381	0,248	7	0,195	0,675	----	----	----
E-I	13	0,587	0,035	10	0,651	0,041	10	0,033	0,929
Σ Endosulfan	15	-0,074	0,792	10	0,227	0,529	13	0,181	0,553

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

Respecto a los pesticidas aldrín, endrín y dieldrín se observa que los niveles iniciales en suero de dieldrín no se asocian con los niveles de endrín, endosulfán α y Σ de endosulfán. Por el contrario, cuanto mayores son los niveles iniciales en suero de aldrín y endrín mayores son los niveles iniciales de endosulfán α ($p=0,035$ y $p=0,041$).

Por último, la siguiente tabla muestra la correlación entre los niveles iniciales de endosulfán α en suero y los niveles de la Σ endosulfán en suero al comienzo del estudio expresados en ng/ml.

	E-I		
	n	r	p
Σ Endosulfan	13	0,179	0,558

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

No existe asociación entre los niveles iniciales de endosulfán α y los niveles de la Σ endosulfán.

4.3.2. Asociación entre la concentración de pesticidas organoclorados en sangre obtenida en la intervención quirúrgica y las distintas variables

4.3.2.a. Asociación entre la concentración de pesticidas organoclorados en sangre obtenida en la intervención quirúrgica y la edad de las pacientes

Se muestra en primer lugar la correlación entre los niveles de pesticidas en suero al inicio del estudio expresados en ng/ml y las distintas variables.

Como aparece en la tabla, se ha encontrado una asociación positiva con indicios de significación estadística entre los niveles (ng/ml) de o, p´DDT ($p=0,075$) y de dieldrín ($p=0,087$) en suero al inicio del estudio, es decir, en el momento de la intervención y la edad. De manera que cuanto más añosa es la paciente mayores son los niveles, tanto de o, p´DDT (ng/ml) como de dieldrín (ng/ml). Así mismo, se encuentra asociación positiva, aunque no alcanza la significación estadística, para los niveles de p, p´DDE y la edad ($p=0,106$).

	Edad		
	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,660	0,075
p, p´ DDT	16	0,08	0,976
p, p DDE	17	0,406	0,106
Σ DDT	17	0,212	0,413
HCB	14	0,115	0,697
Lindano	12	0,021	0,948
Aldrin	15	0,077	0,785
Endrin	10	-0,123	0,736
Dieldrin	13	0,493	0,087
E-I	13	-0,322	0,283
Σ Endosulfan	17	0,151	0,563

ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

A continuación se muestran los resultados de la correlación entre los niveles de residuos organoclorados en el suero de las participantes en el estudio al inicio del mismo ajustados por la carga lipídica y las distintas variables.

También se ha analizado la posible asociación entre los niveles de residuo de pesticida ajustados por el contenido graso del suero y la edad de las pacientes. En este caso se encuentran las asociaciones que se adjuntan a continuación.

	Edad		
	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,667	0,071
p, p´ DDT	16	0,111	0,684
p, p´ DDE	17	0,475	0,054
Σ DDT	17	0,506	0,038
HCB	14	0,374	0,187
Lindano	12	0,354	0,259
Aldrin	15	0,301	0,276
Endrin	10	0,134	0,712
Dieldrin	13	0,537	0,058
E-I	13	0,006	0,986
Σ Endosulfan	17	0,205	0,430

ng/g lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

Como se puede observar en la tabla, al ajustar la concentración de los pesticidas organoclorados por la carga lipídica de las pacientes, se sigue encontrando una asociación positiva entre los niveles de o, p´ DDT (ng/g de grasa) en el suero al inicio del seguimiento y la edad ($p=0,071$). Pero además ese ajuste sirve para encontrar asociación positiva entre las concentraciones de p, p´ DDE, Σ DDT y dieldrín (ng/g lípido) en el suero, en el momento en que las pacientes son sometidas a cirugía y la edad ($p=0,054$, $p=0,038$ y $p=0,058$, respectivamente).

También se ha aplicado el test de correlación de Pearson para comprobar si existe asociación entre los niveles (ng/ml) de pesticidas de las pacientes al inicio del estudio y la edad, comprobándose que existe asociación positiva para los niveles de o, p´ DDT y dieldrín y la edad aunque no se alcanza la significación estadística ($p=0,106$ y $p=0,149$, respectivamente).

	Edad		
	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,613	0,106
p, p´ DDT	16	-0,027	0,920
p, p´ DDE	17	0,243	0,347
Σ DDT	17	0,266	0,302
HCB	14	0,265	0,361
Lindano	12	-0,008	0,979
Aldrin	15	0,046	0,872
Endrin	10	-0,178	0,623
Dieldrin	13	0,424	0,149
E-I	13	-0,268	0,376
Σ Endosulfan	17	0,204	0,433

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

	Edad		
	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,637	0,089
p, p´ DDT	16	0,115	0,673
p, p´ DDE	17	0,362	0,154
Σ DDT	17	0,428	0,086
HCB	14	0,452	0,104
Lindano	12	0,166	0,605
Aldrin	15	0,267	0,335
Endrin	10	-0,082	0,821
Dieldrin	13	0,514	0,073
E-I	13	-0,099	0,748
Σ Endosulfan	17	0,287	0,264

ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Pearson

Igualmente al aplicar el test de Pearson a las mismas variables se observa que se mantiene la asociación positiva entre la edad y los niveles en sangre de o, p´ DDT, Σ DDT y dieldrín expresados en ng/g, en todos los casos sin alcanzar la significación estadística pero con indicios de ella ($p=0,089$, $p=0,086$, $p=0,073$, respectivamente). Perdemos la asociación entre la edad y los niveles de p, p´ DDE pero, sin embargo, hay indicios de significación para la asociación entre los niveles de hexaclorobenceno y la edad de la paciente.

En resumen, al considerar la carga lipídica, se alcanza la significación estadística en la asociación entre los residuos y la edad, para compuestos que no demostraban la asociación antes del ajuste. De manera que cuanto mayor es la edad de la participante en el estudio, mayor es la concentración de los pesticidas en sangre al inicio del mismo.

Como se desprende de la tabla que se muestra a continuación cuanto más añosa es la participante en el estudio, mayor es la ruralidad y el índice de masa corporal medido en la intervención quirúrgica pero, al contrario, menor es el nivel educativo ($p=0,034$, $p=0,027$ y $p<0,001$, respectivamente).

	Edad		
	n	r	p
% Ruralidad	35	0,359	0,034
Nivel escolaridad	35	-0,647	<0,001
Nº hijos nacidos vivos	35	0,169	0,333
Meses lactancia materna	31	0,104	0,578
Estadio tumoral	29	0,127	0,510
IMC interv	35	0,374	0,027

Coeficiente de correlación de Spearman

4.3.2.b. Asociación entre niveles de pesticidas en sangre en el momento de la intervención quirúrgica y los antecedentes obstétricos de las pacientes

En la tabla siguiente se muestran los resultados obtenidos para los niveles de residuos y el haber estado o no embarazada, presentándose los valores de las asociaciones para el valor p de los test Kruskal-Wallis y ANOVA.

Pesticida/ Embarazo	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
o, p´ DDT	8	0,35	0,12	0	----	----	----	----
p,p´ DDT	15	0,74	0,62	1	0,98		0,444	0,486
p,p´ DDE	16	0,95	0,75	1	0,95		0,540	0,763
Σ DDT	16	2,73	1,19	1	3,07		0,540	0,645
HCB	13	0,90	0,41	1	0,95		0,710	0,757
Lindano	11	0,46	0,30	1	0,30		0,884	0,622
Aldrín	14	0,63	0,27	1	0,68		0,817	0,735
Endrín	9	1,61	2,13	1	0,81		0,857	0,685
Dieldrín	12	0,77	0,53	1	0,30		0,181	0,241
E-I	12	0,42	0,34	1	0,28		0,789	0,743
Σ endosulfan	16	4,25	5,34	1	4,03		0,683	0,643

* (ng/ml)

Como se puede observar no se ha encontrado asociación entre los residuos organoclorados medidos en suero y expresados en ng/ml en la intervención y el hecho de haber estado embarazada.

Al estudiar la correlación entre los niveles de pesticidas ajustados por la carga lipídica y el hecho de haber estado embarazada encontramos los siguientes resultados: Las mujeres que han estado embarazadas tienen por término medio niveles más elevados de lindano, endrín y dieldrín en el suero al inicio del estudio expresados en ng/g de lípido que aquellas que no lo han estado. Para esta asociación existen indicios de significación estadística ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,111$ para lindano; $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,117$ para endrín y $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,109$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,095$ para dieldrín).

Pesticida/ Embarazo	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	8	69,31	22,84	0	----	----	----	----
p, p´ DDT	15	153,63	156,54	1	126,71		0,448	0,867
p, p´ DDE	16	196,82	191,64	1	122,95		0,838	0,771
Σ DDT	16	547,08	305,73	1	398,35		0,540	0,714
HCB	13	171,79	74,63	1	123,08		0,385	0,689
Lindano	11	92,72	67,76	1	39,00		0,111	0,265
Aldrín	14	125,06	52,72	1	88,49		0,487	0,641
Endrín	9	354,41	560,61	1	104,94		0,117	0,445
Dieldrín	12	145,84	89,50	1	38,61		0,109	0,095
E-I	12	88,32	89,12	1	36,41		0,181	0,399
Σ endosulfan	16	834,67	1025,5	1	521,84		0,838	0,883

* (ng/g lípido)

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre las concentraciones de residuo en sangre (ng/ml) y el número de hijos nacidos vivos y meses de lactancia acumulados.

	N° hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	8	-0,422	0,298	7	-0,334	0,465
p, p´ DDT	16	-0,044	0,872	15	-0,068	0,808
p, p´ DDE	17	0,423	0,091	16	0,191	0,479
Σ DDT	17	0,153	0,559	16	0,146	0,589
HCB	14	0,321	0,263	13	-0,047	0,879
Lindano	12	0,487	0,109	11	0,018	0,957
Aldrin	15	0,188	0,503	14	0,091	0,758
Endrin	10	0,460	0,181	9	0,293	0,444
Dieldrin	13	0,634	0,020	12	0,485	0,110
E-I	13	0,121	0,695	12	0,095	0,770
Σ Endosulfan	17	0,085	0,746	16	0,281	0,292

ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

En cuanto al número de hijos nacidos vivos, se ha encontrado una asociación positiva con indicios de significación entre la concentración de p, p´DDE (ng/ml) medida en sangre cuando la paciente iba a ser intervenida y el número de hijos ($p=0,091$), en el sentido de que a mayor número de hijos nacidos vivos mayor es la concentración de p, p´DDE (ng/ml) en suero al inicio del estudio. También existe asociación positiva, en este caso, estadísticamente significativa ($p=0,020$), entre los niveles de dieldrín (ng/ml) en el suero y el número de hijos nacidos vivos. Como se observa en la tabla, aunque no existe significación estadística, también hay asociación positiva entre los niveles de lindano y el número de hijos nacidos vivos ($p=0,109$).

Si se atiende a los meses lactancia materna, no se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre los residuos en el suero (ng/ml) al inicio y el hecho de haber amamantado o no, salvo para el dieldrín, en el que parece existir asociación, con indicios de significación estadística en el sentido de que a mayor número de meses de lactancia materna más altos son los niveles del compuesto en sangre de la paciente.

	N° hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	8	-0,479	0,229	7	-0,360	0,428
p, p´ DDT	16	-0,032	0,907	15	0,109	0,698
p, p´ DDE	17	0,540	0,025	16	0,458	0,075
Σ DDT	17	0,183	0,483	16	0,330	0,207
HCB	14	0,317	0,270	13	0,148	0,629
Lindano	12	0,645	0,024	11	0,584	0,059
Aldrin	15	0,051	0,856	14	0,097	0,741
Endrin	10	0,601	0,066	9	0,620	0,075
Dieldrin	13	0,525	0,065	12	0,333	0,290
E-I	13	0,374	0,207	12	0,434	0,459
Σ Endosulfan	17	0,098	0,709	16	0,261	0,330

Coefficiente de correlación de Pearson para número de hijos nacidos vivos y meses de lactancia materna (ng/ml)

Nuevamente aplicando el test de correlación de Pearson para las mismas variables se confirma, esta vez alcanzando la significación estadística, la asociación positiva entre los niveles de p, p´DDE, lindano y el número de hijos nacidos vivos ($p=0,025$ y $p=0,024$, respectivamente). También se aprecia una asociación positiva entre los niveles de endrín y dieldrín y el número de hijos nacidos vivos, con indicios de significación estadística ($p=0,066$ y $p=0,065$, respectivamente). En cuanto a los meses de lactancia, para los mismos pesticidas excepto para dieldrín no se encuentra asociación. De manera que, con indicios de significación, cuanto mayor es el número de meses de lactancia materna mayores son los niveles de p, p´DDE, lindano y endrín en el suero de las pacientes (ng/ml) al inicio del estudio ($p=0,075$, $p=0,059$ y $p=0,075$, respectivamente).

En el análisis de la asociación de estas variables y los niveles de residuo corregidos por la concentración lipídica de los sueros se han obtenido los resultados que se muestran en las tablas siguientes.

Para la correlación entre los niveles de pesticidas y el número de hijos nacidos vivos y los meses de lactancia: Existe asociación positiva entre los niveles de dieldrín en suero ajustado por los lípidos al inicio del seguimiento y el número de hijos nacidos vivos, y esta asociación es estadísticamente significativa ($p=0,009$), es decir, que cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos, mayores son los niveles de dieldrín en suero cuando las mujeres son sometidas a la cirugía mamaria. En el mismo sentido se ha encontrado que existe una asociación positiva entre las concentraciones de p, p´DDE, HCB y

endrín expresados en ng/g de lípidos al inicio del estudio y el número de hijos nacidos vivos con indicios de significación estadística ($p=0,058$, $p=0,087$ y $p=0,092$, respectivamente). También se han encontrado indicios de significación en la asociación entre los niveles de endrín y dieldrín ajustados por la carga lipídica y el número de meses de lactancia ($p=0,075$ y $p=0,078$), de manera que a mayor número de meses de lactancia mayores son los niveles de endrín y dieldrín en suero al inicio del estudio.

	N° hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	8	-0,319	0,441	7	-0,286	0,535
p, p´ DDT	16	-0,002	0,995	15	-0,031	0,914
p, p´ DDE	17	0,468	0,058	16	0,269	0,314
Σ DDT	17	0,289	0,260	16	0,367	0,163
HCB	14	0,474	0,087	13	0,193	0,527
Lindano	12	0,643	0,024	11	0,265	0,431
Aldrin	15	0,217	0,437	14	0,179	0,540
Endrin	10	0,561	0,092	9	0,619	0,075
Dieldrin	13	0,690	0,009	12	0,527	0,078
E-I	13	0,267	0,378	12	0,175	0,585
Σ Endosulfan	17	0,119	0,650	16	0,251	0,348

ng/g lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

Para las mismas variables una vez aplicado el test de Pearson se observa que existe asociación positiva con significación estadística entre los niveles de p, p´DDE, lindano y dieldrín en suero al inicio del estudio expresados como ng/g de lípido y el número de hijos nacidos vivos ($p=0,013$, $p=0,007$ y $p=0,008$, respectivamente). De esta manera cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos mayor es la concentración en suero de estos pesticidas. Así mismo, existe asociación positiva con indicios de significación estadística entre los niveles de hexaclorobenceno, endrín y endosulfán α y el número de hijos nacidos vivos ($p=0,072$, $p=0,056$ y $p=0,117$, respectivamente).

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	8	-0,329	0,426	7	-0,068	0,885
p, p´ DDT	16	0,083	0,761	15	0,219	0,434
p, p´ DDE	17	0,590	0,013	16	0,521	0,038
Σ DDT	17	0,322	0,208	16	0,445	0,084
HCB	14	0,494	0,072	13	0,295	0,328
Lindano	12	0,730	0,007	11	0,640	0,034
Aldrin	15	0,204	0,466	14	0,270	0,350
Endrin	10	0,620	0,056	9	0,652	0,057
Dieldrin	13	0,701	0,008	12	0,448	0,144
E-I	13	0,456	0,117	12	0,465	0,128
Σ Endosulfan	17	0,167	0,521	16	0,328	0,215

ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Pearson

No se observa correlación entre el número de hijos nacidos vivos y el índice de masa corporal. Sin embargo, tenemos que destacar que, como era de esperar, cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos mayor es el número de meses de lactancia ($p < 0,001$).

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
Nº hijos nacidos vivos	----	----	----	31	0,744	<0,001
Meses lactancia materna	31	0,744	<0,001	----	----	----
IMC intervención	35	0,090	0,609	31	0,208	0,263

Coeficiente de correlación de Spearman

4.3.2.c. Asociación entre niveles de pesticidas en sangre en el momento de la intervención quirúrgica y el IMC al inicio del estudio

La tabla siguiente muestra los resultados del análisis estadístico de correlación de Spearman para las concentraciones de los pesticidas seleccionados y el IMC de las pacientes.

	IMC intervención		
	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,254	0,544
p,p´ DDT	16	-0,081	0,764
p,p´ DDE	17	0,310	0,226
Σ DDT	17	0,380	0,133
HCB	14	0,200	0,493
Lindano	12	0,056	0,862
Aldrin	15	0,045	0,874
Endrin	10	-0,113	0,757
Dieldrin	13	-0,044	0,887
E-I	13	0,434	0,138
ΣEndosulfan	17	0,275	0,286

IMC (Índice Masa Corporal); Coeficiente de correlación de Spearman

No se aprecia correlación con significación estadística entre los niveles de pesticidas organoclorados medidos en ng/ml en el suero en la intervención y el IMC medido en el momento del diagnóstico, aunque si existen indicios de significación entre los niveles de Σ DDT y endosulfán α y el IMC, de manera que cuanto mayor es el IMC mayores son los niveles de estos pesticidas en el suero.

Para las mismas variables se ha aplicado el test de correlación de Pearson, resultados que se muestran en la tabla siguiente.

	IMC intervención		
	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,275	0,510
p, p´ DDT	16	-0,236	0,378
p, p´ DDE	17	0,113	0,665
Σ DDT	17	0,212	0,413
HCB	14	0,080	0,786
Lindano	12	-0,025	0,939
Aldrin	15	0,025	0,929
Endrin	10	-0,039	0,914
Dieldrin	13	-0,084	0,785
E-I	13	0,196	0,520
Σ Endosulfan	17	0,305	0,233

*ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

Tampoco se aprecia correlación entre los niveles de pesticidas al inicio del estudio y el índice de masa corporal en la intervención.

Como se observa en la siguiente tabla, se encuentra una asociación positiva entre los niveles en el suero de Σ DDT de las mujeres al inicio del seguimiento ajustados por la carga lipídica y el índice de masa corporal en el mismo momento, además esa asociación es estadísticamente significativa ($p=0,024$). Hay que destacar también que existe asociación positiva entre los niveles de p, p´DDE y hexaclorobenceno y el índice de masa corporal, en este caso con indicios de significación estadística ($p=0,115$ y $p=0,118$, respectivamente). De forma que cuanto mayor es el índice de masa corporal al inicio del estudio mayores son los niveles en suero en ese mismo momento de p, p´DDE, Σ DDT y HCB (ng/ml).

	IMC intervención		
	n	r	p
o, p^ˆ DDT	8	0,381	0,352
p, p^ˆ DDT	16	-0,109	0,688
p, p^ˆ DDE	17	0,397	0,115
Σ DDT	17	0,544	0,024
HCB	14	0,437	0,118
Lindano	12	0,273	0,391
Aldrin	15	0,179	0,524
Endrin	10	0,479	0,162
Dieldrin	13	0,049	0,873
E-I	13	0,412	0,162
Σ Endosulfan	17	0,282	0,273

ng/g lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

Para las mismas variables se ha aplicado el test de correlación de Pearson, datos que se muestran en la siguiente tabla y no se observa, en este caso, asociación entre los niveles de residuos organoclorados en el suero de las pacientes expresado en ng/g de lípido y el índice de masa corporal medido en las mismas al comenzar este estudio.

	IMC intervención		
	n	r	p
o, p^ˆ DDT	8	0,406	0,319
p, p^ˆ DDT	16	-0,151	0,576
p, p^ˆ DDE	17	0,178	0,495
Σ DDT	17	0,287	0,264
HCB	14	0,186	0,525
Lindano	12	0,067	0,835
Aldrin	15	0,135	0,632
Endrin	10	0,100	0,783
Dieldrin	13	-0,019	0,950
E-I	13	0,247	0,415
Σ Endosulfan	17	0,347	0,173

ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Pearson

4.3.2.d. Asociación entre niveles de pesticidas en sangre en el momento de la intervención y las variables de formación y actividad laboral

El análisis estadístico de los datos, efectuado mediante la correlación de Spearman para la concentración de pesticidas y las variables porcentaje de ruralidad y nivel de escolaridad, se muestra en la siguiente tabla.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,091	0,830	8	-0,204	0,628
p, p´ DDT	16	0,031	0,909	16	-0,143	0,597
p, p´ DDE	17	0,158	0,545	17	-0,247	0,338
Σ DDT	17	0,182	0,486	17	-0,220	0,396
HCB	14	-0,127	0,665	14	-0,127	0,665
Lindano	12	-0,079	0,806	12	-0,271	0,394
Aldrin	15	0,097	0,730	15	0,097	0,730
Endrin	10	-0,126	0,729	10	-0,151	0,678
Dieldrin	13	0,544	0,055	13	-0,267	0,378
E-I	13	-0,074	0,810	13	-0,145	0,637
Σ Endosulfan	17	0,098	0,707	17	0,226	0,382

ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

Es interesante ver que entre los niveles de dieldrín en suero en el momento de la operación (ng/ml) y la ruralidad existe una asociación positiva con indicios de significación estadística ($p=0,055$). De modo que a mayor porcentaje de ruralidad mayor es la concentración de dieldrín en el suero (ng/ml) al inicio del seguimiento. No se ha encontrado asociación entre los niveles de pesticidas y el nivel de escolaridad.

También se ha aplicado el test de correlación de Pearson para esas mismas variables y se ha observado que existe correlación positiva, estadísticamente significativa, entre la concentración de dieldrín en el suero de las pacientes en el momento de la intervención y la ruralidad ($p=0,031$), de manera que a mayor ruralidad mayor es la concentración de dieldrín en suero de las participantes al inicio del estudio. No se ha apreciado correlación entre los niveles de residuos y el nivel de escolaridad.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	8	0,001	0,999	8	-0,356	0,387
p, p´ DDT	16	0,127	0,639	16	-0,148	0,585
p, p´ DDE	17	0,125	0,634	17	-0,223	0,390
Σ DDT	17	0,272	0,290	17	-0,280	0,227
HCB	14	-0,288	0,318	14	-0,050	0,864
Lindano	12	0,024	0,940	12	-0,184	0,567
Aldrin	15	0,068	0,811	15	-0,154	0,583
Endrin	10	0,257	0,474	10	-0,205	0,569
Dieldrin	13	0,597	0,031	13	-0,363	0,223
E-I	13	-0,013	0,967	13	-0,162	0,569
Σ Endosulfan	17	0,077	0,768	17	0,144	0,582

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

Como se aprecia en la tabla que se muestra a continuación, existe una asociación positiva entre los niveles de dieldrín medidos en el suero de las pacientes al inicio del seguimiento y ajustados por el contenido lipídico y la ruralidad ($p=0,043$). Destacamos también que se han encontrado indicios de significación en la asociación, también positiva, entre los niveles de la Σ DDT y la ruralidad ($p=0,149$). De este modo, cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad mayores son los niveles en suero al inicio del estudio de dieldrín y de la Σ DDT.

Por otra parte y si atendemos al nivel educativo se han encontrado los siguientes resultados. Existe una asociación negativa entre los niveles de p, p´DDE, la Σ DDT, HCB y lindano medidos en suero en la intervención y expresados en ng/g de lípido y el nivel educativo. Para estas asociaciones existen

indicios de significación estadística ($p=0,078$, $p=0,074$, $p=0,103$ y $p=0,060$, respectivamente). Es decir que a mayor nivel educativo menores son los niveles de p , p' DDE, Σ DDT, HCB y lindano en el suero de las participantes en el suero al inicio del estudio.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
o, p' DDT	8	0,146	0,729	8	-0,472	0,237
p, p' DDT	16	0,095	0,725	16	-0,191	0,479
p, p' DDE	17	0,175	0,501	17	-0,438	0,078
Σ DDT	17	0,366	0,149	17	-0,445	0,074
HCB	14	-0,014	0,963	14	-0,454	0,103
Lindano	12	0,226	0,480	12	-0,557	0,060
Aldrin	15	0,259	0,351	15	-0,314	0,254
Endrin	10	0,138	0,705	10	-0,435	0,209
Dieldrin	13	0,567	0,043	13	-0,369	0,215
E-I	13	0,080	0,796	13	-0,278	0,357
Σ Endosulfan	17	0,133	0,611	17	0,159	0,543

ng/g lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

Aplicando el test de Pearson para las mismas variables se encuentran los resultados que aparecen en la siguiente tabla. Existe asociación positiva, estadísticamente significativa, entre los niveles de dieldrín en suero al comienzo del seguimiento expresados como ng/g de lípido y la ruralidad. Es decir, cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad mayor es la concentración de dieldrín en suero ($p=0,022$). Se encuentran indicios de significación estadística ($p=0,138$) en la asociación positiva entre los niveles de la Σ DDT y la ruralidad. Además se encuentran indicios de significación estadística para la asociación negativa entre los niveles de o , p' DDT, la Σ DDT, aldrín y dieldrín en suero y el nivel de escolaridad, en el sentido de que a mayor nivel de escolaridad menores son las concentraciones de estos residuos en suero ($p=0,139$, $p=0,069$, $p=0,141$ y $p=0,083$, respectivamente).

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
o, p' DDT	8	0,161	0,703	8	-0,572	0,139
p, p' DDT	16	0,221	0,410	16	-0,286	0,283
p, p' DDE	17	0,216	0,406	17	-0,352	0,166
Σ DDT	17	0,375	0,138	17	-0,451	0,069
HCB	14	-0,151	0,607	14	-0,242	0,405
Lindano	12	0,186	0,562	12	-0,372	0,233
Aldrin	15	0,262	0,345	15	-0,399	0,141
Endrin	10	0,311	0,382	10	-0,311	0,381
Dieldrin	13	0,626	0,022	13	-0,498	0,083
E-I	13	0,112	0,717	13	-0,306	0,309
Σ Endosulfan	17	0,138	0,597	17	0,051	0,846

ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Pearson

En cuanto a la relación existente entre sí mismo para las variables que condicionan la exposición, las tablas que se muestran a continuación exploran la asociación.

Cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad, menor es el nivel de escolaridad (p=0,002). Así mismo, cuanto mayor nivel educativo menor es el índice de masa corporal al inicio del estudio (p=0,002).

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
% Ruralidad	----	----	----	35	-0,504	0,002
Nivel escolaridad	35	-0,504	0,002	----	----	----
Nº hijos nacidos vivos	35	-0,062	0,725	35	0,020	0,911
Meses lactancia materna	31	0,047	0,802	31	0,061	0,745
Estadio tumoral	29	0,033	0,864	29	-0,126	0,516
IMC intervención	35	0,145	0,405	35	-0,505	0,002

Coeficiente de correlación de Spearman

Las tablas siguientes muestran los resultados de la aplicación de los tests de Kruskal-Wallis y ANOVA para la asociación entre las variables concentración de pesticidas y trabajo en la agricultura.

En primer lugar se muestran los resultados obtenidos al aplicar los tests utilizando las concentraciones de pesticidas organoclorados expresadas en ng/ml de suero.

Pesticida/ Agricultura	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media *	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	4	0,33	0,10	4	0,36	0,14	0,758	0,774
p,p´ DDT	7	0,95	0,85	9	0,61	0,30	0,631	0,573
p,p´ DDE	7	1,15	1,03	10	0,82	0,44	0,464	0,475
Σ DDT	7	3,00	1,42	10	2,58	0,97	0,770	0,565
HCB	6	0,76	0,37	8	1,00	0,41	0,197	0,242
Lindano	5	0,46	0,33	7	0,44	0,28	0,935	0,905
Aldrín	6	0,57	0,18	9	0,68	0,31	0,596	0,596
Endrín	4	2,51	3,18	6	0,88	0,13	0,660	0,241
Dieldrín	5	0,63	0,29	8	0,80	0,64	1	0,755
E-I	5	0,52	0,52	8	0,35	0,13	1	0,780
Σ endosulfan	7	3,66	4,18	10	4,63	5,96	0,770	0,621

* (ng/ml); coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA.

No se ha encontrado asociación entre los niveles de pesticidas al inicio del seguimiento (ng/ml) y el hecho de haber desarrollado trabajos agrícolas.

A continuación se muestran los resultados de la asociación de las mismas variables, pero una vez que se han ajustado las concentraciones de pesticidas por el contenido lipídico.

Pesticida/ Agricultura	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	4	73,40	20,69	4	65,23	27,30	0,564	0,567
p, p´ DDT	7	220,92	213,25	9	117,86	98,29	0,560	0,213
p, p´ DDE	7	269,08	266,93	10	138,85	80,73	0,172	0,154
Σ DDT	7	688,85	386,45	10	432,97	169,05	0,143	0,112
HCB	6	169,30	80,69	8	167,57	72,17	0,796	0,835
Lindano	5	109,87	86,99	7	72,80	48,77	0,167	0,290
Aldrín	6	135,30	49,06	9	114,17	54,47	0,346	0,457
Endrín	4	607,06	826,71	6	144,39	35,03	0,088	0,104
Dieldrín	5	142,76	83,07	8	134,36	100,64	0,884	0,785
E-I	5	124,37	134,00	8	59,30	26,71	0,464	0,791
Σ endosulfan	7	827,60	948,93	10	808,33	1078,27	0,922	0,960

* (ng/g de lípido); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Los niveles de la Σ DDT y de endrín son más altos en el suero de las pacientes, expresados en ng/g de lípido al inicio del estudio, entre las mujeres que han desarrollado labores agrícolas que entre aquellas que no han trabajado en el campo, pero para esta correlación existen tan sólo indicios de significación estadística (p_{Kruskal-Wallis}=0,143 y p_{ANOVA}=0,112, p_{Kruskal-Wallis}=0,088 y p_{ANOVA}=0,104, respectivamente).

Como muestra en la tabla siguiente las pacientes que no han usado de forma continuada insecticidas tienen niveles medios de aldrín y endosulfán I en su sangre al comienzo del estudio más altos que aquellas participantes que los han usado. Si bien hay que destacar que el número de pacientes que declaran haber usado insecticidas es escaso (n=1).

Pesticida/ Uso insecticidas	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	1	0,25		7	0,36	0,12	0,352	0,384
p, p´ DDT	1	0,25		15	0,79	0,61	0,190	0,222
p, p´ DDE	1	1,38		16	0,93	0,74	0,261	0,338
Σ DDT	1	2,07		16	2,79	1,18	0,540	0,622
HCB	1	1,19		13	0,88	0,40	0,535	0,441
Lindano	1	0,43		11	0,45	0,30	0,662	0,849
Aldrin	1	0,25		14	0,67	0,25	0,132	0,048
Endrin	1	1,25		9	1,56	2,14	0,209	0,839
Dieldrin	1	0,73		12	0,73	0,54	0,593	0,770
E-I	1	0,13		12	0,44	0,33	0,109	0,071
Σ Endosulfan	1	3,80		16	4,26	5,34	0,838	0,680

* (ng/ml); coeficientes de correlación Kruskal-Wallis y ANOVA.

Parece ser que los niveles de aldrín y endosulfán I medidos en el suero de las pacientes y ajustados por el contenido lipídico (tabla siguiente) al inicio del seguimiento son mayores entre las pacientes que no han tenido contacto con insecticidas que entre aquellas que han usado de forma continuada estos productos. Hay que tener en cuenta que para esa asociación existen indicios de significación estadística ($p_{ANOVA}=0,092$, $p_{Kruskal-Wallis}=0,109$, respectivamente).

Pesticida/ Uso insecticidas	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
o, p´ DDT	1	50,84		7	71,95	23,32	0,513	0,456
p, p´ DDT	1	50,84		15	158,68	154,19	0,233	0,296
p, p´ DDT	1	280,04		16	187,00	191,11	0,221	0,345
Σ DDT	1	421,91		16	545,61	306,43	0,683	0,803
HCB	1	242,21		13	140,55	72,54	0,385	0,360
Lindano	1	87,45		11	88,32	69,68	0,469	0,773
Aldrin	1	50,84		14	127,75	49,50	0,165	0,092
Endrin	1	254,62		9	337,78	566,13	0,223	0,774
Dieldrin	1	148,46		12	136,68	94,67	0,593	0,683
E-I	1	25,42		12	89,23	88,47	0,109	0,158
Σ Endosulfan	1	772,08		16	819,03	1028,47	0,683	0,633

ng/g lípido; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

4.3.2.e. Asociación entre niveles de pesticidas en sangre en el momento de la intervención quirúrgica y variables de interés clínico

Las dos tablas siguientes muestran los resultados del análisis estadístico que explora la asociación entre la concentración de pesticidas y el estadio tumoral de las pacientes incluidas en el estudio.

Se ha encontrado una asociación positiva entre la concentración de p, p´DDE, endrín y Σ endosulfán expresados como ng/ml en el suero de la intervención y el estadio tumoral con significación estadística ($p=0,001$, $p=0,006$ y $p=0,009$, respectivamente). Además existen indicios de significación para la asociación positiva entre los niveles en sangre Σ DDT y el estadio tumoral ($p=0,132$). De esta manera, cuanto más avanzada está la enfermedad en el momento del diagnóstico mayores son los niveles en sangre al inicio del estudio de p, p´DDE, Σ DDT, endrín y Σ endosulfán.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
o, p´ DDT	6	0,115	0,828
p, p´ DDT	12	0,026	0,939
p, p´ DDE	12	0,819	0,001
Σ DDT	12	0,461	0,132
HCB	9	0,173	0,656
Lindano	8	0,510	0,196
Aldrin	11	0,299	0,372
Endrin	7	0,899	0,006
Dieldrin	10	0,213	0,554
E-I	9	0,173	0,656
Σ Endosulfan	12	0,717	0,009

ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

Al aplicar el test de correlación de Pearson se vuelve a encontrar asociación positiva entre los niveles (ng/ml) en sangre de p, p´DDE y Σ endosulfán en el momento que las pacientes van a ser operadas, y el estadio tumoral ($p=0,004$ y $p=0,006$, respectivamente); no así para los niveles de edrín ni Σ DDT, aunque sí existen indicios de significación para los niveles de lindano y el estadio tumoral ($p=0,124$).

	Estadio tumoral		
	n	r	p
o, p´ DDT	6	0,078	0,883
p, p´ DDT	12	0,066	0,837
p, p´ DDE	12	0,761	0,004
Σ DDT	12	0,419	0,175
HCB	9	0,269	0,484
Lindano	8	0,590	0,124
Aldrin	11	0,081	0,812
Endrin	7	0,489	0,265
Dieldrin	10	0,136	0,709
E-I	9	0,192	0,621
Σ Endosulfan	12	0,741	0,006

ng/ml; Coeficiente de correlación de Pearson

Un estudio estadístico de idénticas características se ha efectuado entre las variables clínicas consideradas y las concentraciones medias de pesticidas organoclorados, una vez corregidas éstas por el contenido lipídico de la muestra. Se ha encontrado una asociación positiva entre los niveles de la Σ endosulfán medidos en el suero de las participantes al inicio del estudio y ajustados por la carga lipídica y el estadio tumoral, de manera que cuanto más avanzada es la enfermedad mayores son los niveles de la Σ endosulfán ($p=0,009$). Así mismo, existen indicios de significación estadística en la asociación positiva entre los niveles de p, p´DDE y el estadio tumoral ($p=0,056$).

	Estadio tumoral		
	n	r	p
o, p´ DDT	6	0,293	0,573
p, p´ DDT	12	0,102	0,751
p, p´ DDE	12	0,563	0,056
Σ DDT	12	0,256	0,422
HCB	9	0,260	0,500
Lindano	8	0,282	0,499
Aldrin	11	0,120	0,726
Endrin	7	0,289	0,530
Dieldrin	10	0,142	0,695
E-I	9	-0,087	0,825
Σ Endosulfan	12	0,717	0,009

ng/g grasa; Coeficiente de correlación de Spearman

En el mismo sentido, y una vez aplicado el test de correlación de Pearson, se ha encontrado asociación positiva entre los niveles de p, p´DDE y la Σ endosulfán en suero expresado en ng/g de lípido y el estadio tumoral, siendo esta correlación estadísticamente significativa ($p=0,037$ y $p=0,007$, respectivamente). De esta forma cuanto más avanzada la enfermedad neoplásica mayores son los niveles de estos pesticidas en suero.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
o, p' DDT	6	0,300	0,563
p, p' DDT	12	0,039	0,904
p, p' DDE	12	0,605	0,037
Σ DDT	12	0,309	0,329
HCB	9	0,228	0,555
Lindano	8	0,442	0,273
Aldrin	11	0,026	0,940
Endrin	7	0,437	0,327
Dieldrin	10	0,110	0,763
E-I	9	0,146	0,708
Σ Endosulfan	12	0,731	0,007

ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Pearson

En la tabla que se muestra a continuación se aprecia que no existe correlación entre el estadio tumoral y el número de hijos nacidos vivos, meses de lactancia materna e índice de masa corporal.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
N° hijos nacidos vivos	29	0,227	0,235
Meses lactancia materna	25	0,220	0,291
IMC intervención	29	-0,039	0,840
IMC 3 meses	29	-0,106	0,583

Coeficiente de correlación de Spearman

Como se puede apreciar en la tabla siguiente existe asociación entre los niveles de p, p' DDT, Σ DDT, lindano, endrín y endosulfán α en suero en el momento de la intervención, expresados en ng/ml y la radioterapia, de modo que por término medio las pacientes que no reciben radioterapia (un número muy escaso) tienen niveles más altos de estos pesticidas en suero inicial.

Pesticida/ Radioterapia	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p' DDT	7	0,36	0,12	1	0,26	----	0,352	0,384
p,p' DDT	14	0,57	0,30	2	2,06	0,60	0,025	0,004
p,p' DDE	15	0,82	0,40	2	1,99	1,94	0,296	0,121
Σ DDE	15	2,48	0,90	2	4,82	0,33	0,037	0,012
HCB	13	0,91	0,41	1	0,78	----	0,901	0,933
Lindano	11	0,39	0,23	1	1,04	----	0,189	0,036
Aldrín	13	0,62	0,28	2	0,73	0,03	0,174	0,485
Endrín	9	0,89	0,18	1	7,27	----	0,106	<0,001
Dieldrín	12	0,71	0,54	1	0,98	----	0,289	0,440
E-I	12	0,33	0,14	1	1,41	----	0,109	0,005
Σ endosulfan	15	4,36	5,40	2	3,31	4,22	0,766	0,539

*ng/ml; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Atendiendo al tratamiento radioterápico y los niveles de residuos de pesticidas en sangre, una vez corregidos por el contenido lipídico de las muestras, se encuentran los siguientes resultados: La pacientes que no reciben radioterapia tienen por término medio niveles más altos en suero expresados en ng/g de p, p´DDT, p, p´DDE, Σ DDT, lindano, endrín y Σ endosulfán que aquellas que sí reciben este tratamiento adyuvante ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,026$ y $p_{\text{ANOVA}}<0,001$ para p, p´DDT, $p_{\text{ANOVA}}=0,043$ para p, p´DDE, $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,025$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,001$ para Σ DDT, $p_{\text{ANOVA}}=0,011$ para lindano, $p_{\text{ANOVA}}<0,001$ para endrín y $p_{\text{ANOVA}}=0,002$ para Σ endosulfán). También hay que destacar que las pacientes que no se someten a radioterapia después de la cirugía tienen niveles medios más altos de aldrín en suero al inicio del estudio que aquellas que sí lo hacen. Para esta asociación existen indicios de significación estadística ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,126$, $p_{\text{ANOVA}}=0,131$).

Pesticida/ Radioterapia	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	7	70,15	24,54	1	63,47	----	0,827	0,914
p, p´ DDT	14	100,97	51,97	2	508,75	132,81	0,026	<0,001
p, p´ DDE	15	151,24	80,60	2	501,70	498,32	0,180	0,043
Σ DDT	15	450,45	173,90	2	1197,41	122,08	0,025	0,001
HCB	13	166,01	75,31	1	198,28	----	0,535	0,605
Lindano	11	72,27	38,53	1	264,04	----	0,111	0,011
Aldrín	13	113,71	49,53	2	180,54	13,96	0,126	0,131
Endrín	9	161,01	45,52	1	1845,47	----	0,117	<0,001
Dieldrín	12	128,32	88,07	1	248,80	----	0,285	0,229
E-I	12	61,52	28,16	1	357,97	----	0,109	0,002
Σ endosulfan	15	813,21	1025,2	2	839,16	1073,45	0,766	0,790

* (ng/g de lípido); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Si se analizan las pacientes que reciben quimioterapia antineoplásica preoperatoria, se observa que en general no existe asociación entre haber recibido o no tratamiento quimioterápico neoadyuvante y los niveles en suero al inicio del estudio expresados en ng/ml.

Pesticidas/ Quimioterapia Preoperatoria	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	1	0,41	----	7	0,33	0,11	0,485	0,503
p, p´ DDT	4	0,70	0,19	12	0,78	0,69	0,807	0,652
p, p´ DDE	4	0,68	0,31	13	1,04	0,81	0,365	0,356
Σ DDE	4	2,71	1,49	13	2,76	1,10	0,734	0,794
HCB	3	0,67	0,35	11	0,96	0,40	0,484	0,203
Lindano	1	0,30	----	11	0,46	0,30	0,884	0,622
Aldrín	2	0,89	0,30	13	0,60	0,25	0,234	0,196
Endrín	2	0,85	0,06	8	1,70	2,26	1,000	0,615
Dieldrín	4	0,74	0,59	9	0,73	0,53	0,758	0,951
E-I	2	0,36	0,11	11	0,42	0,36	0,639	0,967
Σ endosulfan	4	6,59	9,58	13	3,51	3,21	1,000	0,836

* (ng/ml); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

De los datos presentados en la tabla siguiente se deduce que las mujeres que no reciben tratamiento quimioterápico neoadyuvante tienen niveles medios de HCB, expresados en ng/g de lípido, más altos en el suero al inicio del seguimiento ajustados por la carga lipídica que aquellas que sí son sometidas a este tratamiento ($p_{ANOVA}=0,040$). Además, existen indicios de significación estadística para las pacientes que no reciben quimioterapia preoperatoria y que tienen concentraciones más altas de lindano y endrín en suero cuando van a ser intervenidas que aquellas que sí la reciben ($p_{Kruskal-Wallis}=0,111$ y $p_{Kruskal-Wallis}=0,117$, respectivamente).

Pesticida/ Quimioterapia Preoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	1	74,00	----	7	68,64	24,59	0,827	0,743
p, p´ DDT	4	110,90	15,35	12	165,62	174,27	0,808	0,971
p, p´ DDE	4	109,09	48,78	13	218,13	206,66	0,174	0,181
Σ DDT	4	440,09	272,31	13	568,56	309,56	0,258	0,353
HCB	3	101,99	52,40	11	186,40	68,37	0,102	0,040
Lindano	1	39,00	----	11	92,72	67,76	0,111	0,265
Aldrín	2	143,06	77,17	13	119,48	50,38	0,610	0,603
Endrín	2	132,99	39,67	8	378,58	549,28	0,117	0,446
Dieldrín	4	127,59	111,72	9	142,03	87,11	0,643	0,590
E-I	2	56,88	28,95	11	89,32	93,40	0,693	0,674
Σ endosulfan	4	1127,72	1744,5	13	720,44	720,57	0,821	0,929

* (ng/g grasa); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

En lo que respecta a la quimioterapia antineoplásica postoperatoria según se aprecia en la siguiente tabla las pacientes que no reciben tratamiento quimioterápico adyuvante tienen niveles medios de p, p´ DDT, expresados en ng/ml, más altos que aquellas mujeres que sí se someten al tratamiento adyuvante ($p_{Kruskal-Wallis}=0,101$ y $p_{ANOVA}=0,032$). Así mismo ocurre para la Σ DDT y Σ endosulfán, que con indicios de significación, los niveles de Σ DDT y

Σ endosulfán son por término medio más altos en las pacientes que no reciben quimioterapia que en aquellas que sí lo hacen. Hay que hacer notar que en este caso las pacientes que no reciben quimioterapia son muy pocas.

Pesticida/ Quimioterapia Postoperatoria	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	8	0,34	0,11	0	----	----	----	----
p,p´ DDT	15	0,64	0,40	1	2,49	----	0,101	0,032
p,p´ DDE	16	0,98	0,75	1	0,62	----	0,838	0,657
Σ DDE	16	2,64	1,08	1	4,58	----	0,221	0,140
HCB	14	0,90	0,40	0	----	----	----	----
Lindano	12	0,45	0,29	0	----	----	----	----
Aldrín	14	0,63	0,27	1	0,70	----	0,487	0,686
Endrín	10	1,53	2,02	0	----	----	----	----
Dieldrín	13	0,73	0,52	0	----	----	----	----
E-I	13	0,41	0,33	0	----	----	----	----
Σ endosulfan	16	4,48	5,24	1	0,33	----	0,102	0,590

* (ng/ml); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Las pacientes que, después de la cirugía, no reciben quimioterapia tienen por término medio niveles más altos de p, p´ DDT en suero, corregidos por la carga lipídica, al comienzo del seguimiento que aquellas que si se someten a este tratamiento adyuvante ($p_{ANOVA}=0,014$). También existen indicios de significación estadística entre la mayor concentración de Σ DDT y Σ endosulfán en el suero de las mujeres que no fueron sometidas a quimioterapia que las que sí recibieron este tratamiento ($p_{ANOVA}=0,072$ para Σ DDT y $p_{Kruskal-Wallis}=0,102$ y $p_{ANOVA}=0,134$ para Σ endosulfán).

Pesticida/ Quimioterapia Postoperatoria	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	8	69,31	22,84	0	----	----	----	----
p, p´ DDT	15	121,90	95,27	1	602,66	----	0,104	0,014
p, p´ DDE	16	195,17	192,19	1	149,33	----	0,838	0,998
Σ DDT	16	502,53	267,63	1	1111,09	----	0,153	0,072
HCB	14	168,31	72,87	0	----	----	----	----
Lindano	12	88,25	66,44	0	----	----	----	----
Aldrín	14	119,19	51,82	1	170,67	----	0,355	0,376
Endrín	10	329,46	534,40	0	----	----	----	----
Dieldrín	13	137,59	90,70	0	----	----	----	----
E-I	13	84,33	86,53	0	----	----	----	----
Σ endosulfan	16	862,28	1009,7	1	80,11	----	0,102	0,134

* (ng/g de grasa); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Por último, las pacientes que son sometidas a mastectomía radical modificada tienen en suero en el momento de comenzar el estudio niveles más altos de o, p´DDT, expresados en ng/ml, que aquellas que son tratadas mediante cirugía conservadora de la mama ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,091$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,109$). En el mismo sentido encontramos que los niveles en suero de aldrín en el momento de la intervención son más altos en las pacientes con mastectomía que en las pacientes a las que se practica cuadrantectomía.

Pesticida/ Tipo de Cirugía	Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			p K-W	p Anova
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	4	0,28	0,61	4	0,41	0,12	0,091	0,109
p, p´ DDT	7	0,62	0,35	9	0,86	0,75	0,883	0,590
p, p´ DDE	8	0,80	0,39	9	1,09	0,94	0,500	0,552
Σ DDE	8	2,48	0,76	9	3,00	1,42	0,700	0,516
HCB	7	1,02	0,39	7	0,78	0,39	0,277	0,235
Lindano	7	0,43	0,28	5	0,47	0,33	0,935	0,837
Aldrin	8	0,57	0,31	7	0,72	0,19	0,165	0,148
Endrin	5	0,92	0,24	5	2,14	2,87	0,518	0,417
Dieldrin	6	0,73	0,64	7	0,73	0,45	0,668	0,783
E-I	7	0,30	0,12	6	0,55	0,45	0,199	0,152
Σ Endosulfan	8	2,61	1,86	9	5,68	6,75	0,564	0,590

*(ng/ml); VA: Vaciamiento axilar

No aparece en esta tabla la variable tumorectomía más vaciamiento axilar por ser n=0.

Al expresar los niveles de pesticidas en suero en ng/g de lípido se encuentra que las mujeres intervenidas mediante el procedimiento de la mastectomía radical modificada tienen niveles medios de aldrín en suero más altos en el momento de la operación que aquellas que se intervienen realizando cirugía conservadora ($p_{ANOVA}=0,046$). Así mismo, también se han encontrado niveles más altos en suero expresados en ng/g de lípidos de o, p´DDT y endosulfán I en las pacientes sometidas a cirugía radical. Para esta asociación existen indicios de significación ($p_{Kruskal-Wallis}=0,083$ y $p_{ANOVA}=0,053$ para o, p´DDT y $p_{ANOVA}=0,126$ para endosulfán I).

Pesticida/ Tipo de Cirugía	Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	4	54,71	17,95	4	83,93	18,07	0,083	0,053
p, p´ DDT	7	110,77	68,54	9	183,97	191,85	0,791	0,443
p, p´ DDE	8	146,42	79,67	9	233,41	244,83	0,501	0,420
Σ DDT	8	447,52	168,11	9	619,05	370,88	0,386	0,345
HCB	7	185,34	73,78	7	151,29	73,38	0,665	0,377
Lindano	7	76,64	46,60	5	104,49	91,19	0,570	0,595
Aldrin	8	99,48	51,43	7	149,06	40,18	0,064	0,046
Endrin	5	167,57	56,65	5	491,35	757,51	0,917	0,438
Dieldrin	6	125,01	90,91	7	148,37	96,29	0,668	0,741
E-I	7	54,59	28,06	6	119,02	119,76	0,153	0,126
Σ Endosulfan	8	475,88	349,59	9	1118,83	1287,53	0,630	0,485

* (ng/g grasa); VA: Vaciamiento axilar; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

La variable tumorectomía junto con vaciamiento axilar no aparece en esta tabla por ser n=0.

4.3.3. Asociación entre la concentración de pesticidas organoclorados en tejido adiposo mamario obtenido en la intervención quirúrgica y las distintas variables

Al igual que se hizo en el caso de las determinaciones séricas de residuos de pesticidas organoclorados, se ha estudiado en primer lugar la correlación existente entre los niveles séricos de los diferentes residuos con objeto de investigar posibles asociaciones entre compuestos químicos-componentes parentales y metabolitos- y fuentes de exposición.

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre los niveles de o, p´DDT, p, p´DDT, p, p DDE y Σ DDT en tejido graso mamario y niveles del resto de pesticidas tejido graso mamario.

	o, p´ DDT			p, p´ DDT			p, p´ DDE		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	----	----	----	33	0,012	0,946	34	0,378	0,027
p, p´ DDE	34	0,378	0,027	34	0,397	0,020	----	----	----
Σ DDT	34	0,345	0,046	34	0,371	0,031	35	0,783	<0,001
HCB	34	0,200	0,256	34	0,108	0,542	35	0,525	0,001
Lindano	34	0,113	0,524	34	0,119	0,502	35	0,092	0,600
Aldrin	34	-0,042	0,812	34	0,220	0,211	35	-0,125	0,474
Endrin	34	0,068	0,703	34	-0,172	0,330	35	0,022	0,901
Dieldrin	32	0,291	0,106	32	0,089	0,627	33	0,284	0,109
E-I	34	0,633	<0,001	34	-0,114	0,519	35	-0,103	0,556
Σ Endosulfan	34	0,290	0,096	34	-0,156	0,379	35	0,080	0,650

ng/g; Coeficiente de correlación de Pearson

Conforme aumenta la concentración de o, p´DDT en tejido graso mamario, aumentan también los niveles en grasa mamaria de p, p´DDE, Σ DDT, dieldrín, endosulfán I y Σ endosulfán. Las asociaciones son estadísticamente significativas ($p=0,027$, $p=0,046$ y $p<0,001$). Existen indicios de significación estadística para la asociación con dieldrín y la Σ endosulfán ($p=0,106$ y $p=0,096$, respectivamente).

A mayor nivel de p, p´DDT en grasa mamaria mayor nivel, también en grasa mamaria, de p, p´DDE y Σ DDT ($p=0,020$ y $p=0,031$, respectivamente). Y por último, a mayor concentración en la mama de p, p´DDE mayor concentración de hexaclorobenceno ($p=0,001$).

La tabla siguiente muestra los datos de la correlación de Pearson para la asociación entre los residuos de pesticidas organoclorados y DDE.

	Σ DDT		
	n	r	p
o, p´ DDT	34	0,345	0,046
p, p´ DDE	35	0,783	<0,001
Σ DDT			
HCB	35	0,122	0,486
Lindano	35	-0,131	0,453
Aldrin	35	-0,345	0,042
Endrin	35	0,136	0,434
Dieldrin	33	0,139	0,441
E-I	35	0,000	0,998
Σ Endosulfan	35	0,085	0,629

ng/g; Coeficiente de correlación de Pearson

Cuanto mayor es el nivel de la Σ DDT en grasa mamaria mayores son los niveles de o, p´DDT, p, p´DDE ($p=0,046$ y $p<0,001$, respectivamente). Sin embargo, mayores niveles de Σ DDT se asocian con menor exposición al aldrín ($p=0,042$).

La tabla muestra la correlación entre niveles de HCB y lindano en tejido graso mamario y niveles del resto de pesticidas tejido graso mamario.

	HCB			Lindano		
	n	r	p	n	r	p
o, p' DDT	34	0,200	0,256	34	0,113	0,524
p, p' DDE	35	0,525	0,001	35	0,092	0,600
Σ DDT	35	0,122	0,486	35	-0,131	0,453
HCB	----	----	----	35	0,133	0,446
Lindano	35	0,133	0,446	----	----	----
Aldrin	35	0,094	0,591	35	0,167	0,338
Endrin	35	-0,114	0,514	35	-0,093	0,594
Dieldrin	33	0,099	0,584	33	0,099	0,584
E-I	35	-0,012	0,943	35	0,100	0,569
Σ Endosulfan	35	0,013	0,942	35	0,059	0,735

ng/g; Coeficiente de correlación de Pearson

No se aprecia asociación entre los niveles de hexaclorobenceno y lindano y los niveles del resto de pesticidas en tejido graso mamario.

La tabla siguiente muestra la correlación entre niveles de aldrín, endrín y dieldrín en tejido graso mamario y niveles del resto de pesticidas tejido graso mamario.

	Aldrin			Endrin			Dieldrin		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
Endrin	35	0,332	0,052	----	----	----	33	0,726	<0,001
Dieldrin	33	0,554	0,001	33	0,726	<0,001	----	----	----
E-I	35	-0,029	0,870	35	0,044	0,804	33	0,031	0,863
ΣEndosulfan	15	-0,188	0,502	10	0,192	0,595	13	-0,143	0,642

Parece que cuanto mayor es la concentración en tejido adiposo mamario de aldrín mayor es también la concentración de endrín y dieldrín ($p=0,052$ y $p=0,001$). No se ha encontrado asociación entre los niveles de endrín y los niveles del resto de residuos organoclorados. Por último, a mayor nivel en grasa mamaria de dieldrín, también mayor concentración de endrín ($p<0,001$).

La siguiente tabla muestra los datos de asociación entre niveles de endosulfán I en tejido graso mamario y niveles de la Σ endosulfán tejido graso mamario.

	E-I		
	N	r	p
Σ Endosulfan	13	0,297	0,325

Coefficiente de correlación de Pearson

Como se puede apreciar no existe asociación entre el endosulfán I y la Σ endosulfán.

4.3.3.a Asociación entre los niveles de residuos en grasa mamaria y la edad de las pacientes

A continuación se presentan los resultados de la asociación entre los niveles de pesticidas organoclorados medidos en el tejido adiposo mamario que se obtiene en el mismo instante que la paciente es intervenida quirúrgicamente y las distintas variables seleccionadas.

La tabla siguiente muestra la correlación existente (Spearman) entre la concentración de los diferentes residuos y la edad de la paciente.

	Edad		
	n	r	p
o, p´ DDT	34	0,131	0,461
p, p´ DDT	34	0,317	0,068
p, p´ DDE	35	0,463	0,005
Σ DDT	35	0,452	0,006
HCB	35	0,597	<0,001
Lindano	35	0,068	0,699
Aldrin	35	0,203	0,241
Endrin	35	-0,011	0,948
Dieldrin	33	0,094	0,603
E-I	35	-0,097	0,350
Σ Endosulfan	35	0,092	0,600

Coefficiente de correlación de Spearman

Se ha encontrado una asociación positiva entre los niveles de p, p´DDE, Σ DDT y hexaclorobenceno medidos en grasa mamaria y la edad (p=0,005, p=0,006 y p<0,001, respectivamente). Esto significa que a mayor edad, mayores son las concentraciones de estos pesticidas en grasa mamaria. También existe asociación positiva entre la edad y los niveles en tejido adiposo mamario de p, p´DDT, aunque esta última asociación se sitúa en los límites de la significación estadística (p=0,068).

Cuando a los mismos datos experimentales se le aplica el test de correlación de Pearson se obtienen idénticos resultados, pero con la salvedad de que la asociación para el p, p´DDT se hace significativa. Así pues, cuanto mayor es la edad de la paciente mayor es la concentración en tejido adiposo mamario de p, p´DDT, p, p´DDE, Σ DDT y hexaclorobenceno (p=0,019, p=0,008, p=0,020 y p=0,004, respectivamente).

	Edad		
	n	r	p
o, p´ DDT	34	0,107	0,549
p, p´ DDT	34	0,401	0,019
p, p´ DDE	35	0,439	0,008
Σ DDT	35	0,391	0,020
HCB	35	0,474	0,004
Lindano	35	0,123	0,482
Aldrin	35	0,170	0,328
Endrin	35	0,012	0,947
Dieldrin	33	0,079	0,660
E-I	35	-0,012	0,945
Σ Endosulfan	35	0,063	0,720

Coefficiente de correlación de Pearson

4.3.3.b Asociación entre niveles de residuos en grasa mamaria en la intervención y las variables obstétricas

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos de la correlación entre la concentración de pesticidas organoclorados en tejido graso mamario y el hecho de haber estado o no embarazada.

Pesticida/ Embarazo	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	29	10,43	8,67	5	14,62	10,21	0,296	0,259
p, p´ DDT	29	38,83	36,26	5	19,48	30,61	0,328	0,528
p, p´ DDE	30	408,96	273,27	5	463,04	151,41	0,370	0,363
Σ DDT	30	564,57	371,24	5	610,33	244,36	0,509	0,482
HCB	30	146,01	115,06	5	357,49	412,13	0,073	0,143
Lindano	30	37,81	110,08	5	22,79	6,83	0,278	0,507
Aldrín	30	6,65	7,66	5	4,27	5,62	0,572	0,716
Endrín	30	54,83	81,86	5	105,37	181,33	0,723	0,875
Dieldrín	28	22,40	31,30	5	37,27	57,86	0,763	0,434
E-I	30	22,28	26,09	5	8,72	7,62	0,195	0,328
Σ endosulfan	30	106,76	96,47	5	221,54	239,38	0,423	0,232

*(ng/g); Coeficientes de correlación Kruskal-Wallis y ANOVA

Las pacientes que no han estado embarazadas tienen, por término medio, niveles más altos de hexaclorobenceno en el tejido graso mamario al comienzo del estudio que aquellas participantes que sí lo han estado. Para esta asociación existen indicios de significación estadística (p_{Kruskal-Wallis} y p_{ANOVA}=0,143).

En la tabla que se muestra a continuación aparecen los resultados obtenidos en relación a la asociación entre los niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario y el número de hijos nacidos vivos y los meses de lactancia materna.

	N° hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
o, p' DDT	34	-0,116	0,514	30	-0,187	0,321
p, p' DDT	34	0,108	0,544	30	0,037	0,847
p, p' DDE	35	-0,043	0,807	31	-0,056	0,763
Σ DDT	35	0,074	0,671	31	0,094	0,615
HCB	35	-0,143	0,411	31	-0,022	0,905
Lindano	35	-0,287	0,094	31	-0,036	0,847
Aldrin	35	0,018	0,919	31	-0,014	0,939
Endrin	35	0,043	0,805	31	-0,030	0,872
Dieldrin	33	-0,024	0,893	29	-0,204	0,290
E-I	35	0,055	0,755	31	-0,108	0,561
Σ Endosulfan	35	-0,147	0,400	31	-0,230	0,214

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

En cuanto al número de hijos nacidos vivos se han encontrado indicios de significación entre los niveles de lindano en tejido grasa mamario y el número de hijos, de manera que cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos menor es la concentración de lindano en la grasa mamaria (p=0,094). No se ha encontrado asociación entre los niveles de residuos en grasa y los meses de lactancia.

Se observa la misma asociación y en el mismo sentido que en el caso anterior entre niveles de lindano en grasa y el número de hijos nacidos vivos al aplicar el test de Pearson. Así, a mayor número de hijos nacidos vivos menor es la concentración de lindano en grasa. Para esta asociación también existen indicios de significación estadística ($p=0,114$). También se aprecian indicios de significación estadística entre los niveles de dieldrín y Σ endosulfán y el número de meses de lactancia, de manera que cuanto mayor es el número de meses de lactancia menores son los niveles de dieldrín y Σ endosulfán en la grasa mamaria al inicio del estudio ($p=0,063$ y $p=0,149$, respectivamente).

	Nº hijos nacidos vivos			Nº meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	34	-0,040	0,824	30	-0,023	0,904
p, p´ DDT	34	0,050	0,779	30	0,075	0,694
p, p´ DDE	35	-0,085	0,628	31	0,029	0,878
Σ DDT	35	0,014	0,935	31	0,125	0,502
HCB	35	-0,185	0,288	31	-0,033	0,859
Lindano	35	-0,272	0,114	31	0,157	0,399
Aldrin	35	-0,012	0,947	31	-0,216	0,243
Endrin	35	0,028	0,874	31	-0,200	0,282
Dieldrin	33	-0,149	0,407	29	-0,350	0,063
E-I	35	0,123	0,481	31	-0,084	0,654
Σ Endosulfan	35	-0,176	0,313	31	-0,266	0,149

Coefficiente de correlación de Pearson

4.3.3.c Asociación entre niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario en la intervención quirúrgica y el IMC al inicio del estudio

Cuanto mayor es el índice de masa corporal de las pacientes al inicio del seguimiento mayores son las concentraciones de p, p' DDE, Σ DDT y hexaclorobenceno en el tejido graso mamario obtenido cuando la paciente es intervenida. Para esta asociación positiva existe una alta significación estadística ($p=0,001$, $p=0,005$ y $p=0,002$, respectivamente). También hay que destacar que a mayor IMC antes de la intervención, mayores son los niveles en la grasa mamaria de o, p' DDT, aunque para esta asociación, también positiva, sólo existen indicios de significación estadística ($p=0,135$).

	IMC intervención		
	n	r	p
o, p' DDT	34	0,262	0,135
p, p' DDT	34	-0,041	0,817
p, p' DDE	35	0,552	0,001
Σ DDT	35	0,462	0,005
HCB	35	0,515	0,002
Lindano	35	0,044	0,803
Aldrin	35	-0,130	0,457
Endrin	35	0,179	0,304
Dieldrin	33	0,202	0,260
E-I	35	0,021	0,906
Σ Endosulfan	35	0,091	0,604

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Aplicando el test de correlación de Pearson, se ha encontrado la misma asociación entre el IMC y los niveles de organoclorados en la grasa mamaria y en el mismo sentido. Así pues, cuanto mayor es el IMC de las participantes al inicio del estudio mayores son las concentraciones de p, p´DDE, Σ DDT y hexaclorobenceno en el tejido adiposo mamario, existiendo en esta asociación una alta significación estadística ($p=0,003$, $p=0,015$ y $p=0,004$, respectivamente).

	IMC intervención		
	n	r	p
o, p´ DDT	34	0,141	0,426
p, p´ DDT	34	-0,016	0,929
p, p´ DDE	35	0,495	0,003
Σ DDT	35	0,408	0,015
HCB	35	0,470	0,004
Lindano	35	0,193	0,268
Aldrin	35	-0,212	0,221
Endrin	35	0,158	0,363
Dieldrin	33	0,078	0,666
E-I	35	-0,063	0,718
Σ Endosulfan	35	-0,162	0,353

ng/g; Coeficiente de correlación de Pearson

4.3.3.d Asociación entre los niveles de residuos en grasa mamaria en la intervención y las variables formación y actividad laboral

Según muestran los datos que recoge la tabla siguiente se deduce que existe asociación negativa entre los niveles de p, p´DDT en el tejido adiposo mamario y el porcentaje de ruralidad, con indicios de significación estadística ($p=0,099$). Por otra parte, existe asociación positiva entre los niveles de hexaclorobenceno y la ruralidad, resultado estadísticamente significativo ($p=0,025$). De manera que cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad mayores son los niveles de HCB y menores los de p, p´DDT en tejido adiposo mamario.

Referido al nivel educativo, cuanto mayor es éste, menores son los niveles de p, p´DDE, Σ DDT y HCB en tejido graso mamario. En esta asociación se aprecia una alta significación estadística ($p=0,001$, $p=0,006$ y $p=0,000$, respectivamente).

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	34	-0,083	0,643	34	-0,166	0,348
p, p´ DDT	34	-0,287	0,099	34	-0,004	0,982
p, p´ DDE	35	0,100	0,566	35	-0,528	0,001
Σ DDT	35	0,117	0,501	35	-0,453	0,006
HCB	35	0,378	0,025	35	-0,640	<0,001
Lindano	35	0,154	0,376	35	0,031	0,858
Aldrin	35	-0,145	0,407	35	0,108	0,537
Endrin	35	-0,001	0,997	35	0,041	0,814
Dieldrin	33	-0,068	0,708	33	-0,060	0,741
E-I	35	-0,205	0,237	35	0,011	0,949
Σ Endosulfan	35	0,055	0,752	35	-0,126	0,470

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Al utilizar el test de correlación de Pearson, no es posible poner de manifiesto esta asociación entre la ruralidad y el nivel de pesticidas hallado anteriormente. Sin embargo, se ha encontrado asociación, y en el mismo sentido entre nivel de escolaridad y la concentración de pesticidas en grasa mamaria. De este modo, cuanto mayor es el nivel de escolaridad menores son los niveles de p, p´DDE, Σ DDT y HCB, siendo esta asociación negativa altamente significativa desde el punto de vista estadístico ($p=0,001$, $p=0,035$ y $p=0,006$, respectivamente).

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
o, p´ DDT	34	-0,097	0,584	34	-0,103	0,563
p, p´ DDT	34	-0,169	0,339	34	-0,136	0,443
p, p´ DDE	35	-0,013	0,940	35	-0,555	0,001
Σ DDT	35	0,073	0,679	35	-0,357	0,035
HCB	35	0,132	0,448	35	-0,456	0,006
Lindano	35	0,177	0,309	35	-0,175	0,315
Aldrin	35	-0,113	0,516	35	0,054	0,759
Endrin	35	0,015	0,930	35	0,059	0,738
Dieldrin	33	-0,021	0,908	33	-0,126	0,486
E-I	35	-0,085	0,626	35	0,033	0,849
Σ Endosulfan	35	0,122	0,485	35	-0,092	0,599

ng/g; Coeficiente de correlación de Pearson

Como se presenta en la siguiente tabla, los niveles de hexaclorobenceno en el tejido adiposo mamario al inicio del estudio son, por término medio, más altos en mujeres que han desarrollado trabajos agrícolas que entre las que no han trabajado en la agricultura ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,024$, $p_{\text{ANOVA}}=0,061$). Además los niveles de p, p´DDE son también más altos en pacientes que han trabajado en la agricultura que las que no lo han hecho ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,101$). Sin embargo, para las participantes que han tenido relación con la agricultura, los niveles en grasa mamaria de p, p´DDT son más bajos que para aquellas que no han trabajado nunca en el campo ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,090$).

Pesticida/ Agricultura	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	13	11,08	9,38	21	11,02	8,77	0,929	0,582
p, p´ DDT	13	22,49	26,68	21	44,34	38,59	0,090	0,238
p, p´ DDE	13	458,43	172,91	22	392,02	298,81	0,101	0,188
Σ DDT	13	577,50	257,00	22	567,33	405,39	0,393	0,598
HCB	13	255,89	268,01	22	129,14	111,65	0,024	0,061
Lindano	13	64,46	166,68	22	18,64	9,83	0,891	0,226
Aldrín	13	4,51	5,98	22	7,38	8,03	0,280	0,447
Endrín	13	104,09	142,51	22	37,21	51,88	0,330	0,270
Dieldrín	12	35,21	53,56	21	18,62	18,86	0,764	0,532
E-I	13	23,88	36,96	22	18,26	13,98	0,356	0,461
Σ endosulfan	13	186,95	188,99	22	85,46	45,15	0,219	0,324

* (ng/g); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Las pacientes que no han usado de forma continuada insecticidas tienen por término medio niveles de HCB, endrín y dieldrín en tejido adiposo mamario más bajos que aquellas que si los han utilizado ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,068$ para HCB, $p_{\text{ANOVA}}=0,081$ para endrín y $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,149$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,110$ para dieldrín). Sin embargo, se observa que estas mujeres, que han usado insecticidas, tienen

niveles más bajos de p, p´ DDT en grasa mamaria que las que no los han usado ($p_{ANOVA}=0,051$) . Estos datos pueden ser apreciados en la tabla siguiente.

Pesticida/ Uso insecticidas	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	3	13,13	6,61	31	10,84	9,12	0,412	0,443
p, p´ DDT	3	3,98	6,54	31	39,08	35,92	0,383	0,051
p, p´ DDE	3	544,53	192,08	32	404,70	262,89	0,175	0,264
Σ DDT	3	708,07	329,94	32	558,27	357,65	0,377	0,358
HCB	3	268,15	123,29	32	167,60	196,49	0,068	0,264
Lindano	3	18,99	9,38	32	37,22	106,48	0,814	0,842
Aldrin	3	3,28	5,33	32	6,60	7,54	0,480	0,604
Endrin	3	252,5	217,92	32	44,19	62,94	0,157	0,081
Dieldrin	3	99,97	83,37	30	17,12	16,77	0,149	0,110
E-I	3	32,31	50,36	32	19,22	22,15	0,791	0,490
Σ Endosulfan	3	260,25	212,42	32	110,30	114,11	0,289	0,209

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

4.3.3.e Asociación entre niveles de pesticidas en grasa mamaria en la intervención y las variables de interés clínico

Como se observa en la siguiente tabla no existe asociación entre los niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario y el estadio tumoral.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
o, p' DDT	28	0,042	0,832
p, p' DDT	28	0,067	0,734
p, p' DDE	29	-0,046	0,812
Σ DDT	29	-0,064	0,740
HCB	29	0,147	0,447
Lindano	29	-0,229	0,231
Aldrin	29	-0,006	0,975
Endrin	29	-0,230	0,230
Dieldrin	27	-0,089	0,657
E-I	29	0,119	0,539
Σ Endosulfan	29	-0,200	0,298

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Sin embargo, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson, se puede ver que existen indicios de significación estadística en la asociación negativa entre los niveles de endrín en grasa mamaria y el estadio tumoral ($p=0,080$), de manera que cuanto más avanzada está la enfermedad neoplásica menores son los niveles de endrín. Todo lo contrario ocurre con el endosulfán α , que a mayor estadio tumoral mayores son los niveles del mismo en tejido graso mamario. En esta asociación positiva también existen indicios de significación estadística ($p=0,145$).

	Estadio tumoral		
	n	r	p
o, p´ DDT	28	0,070	0,725
p, p´ DDT	28	0,108	0,583
p, p´ DDE	29	-0,003	0,988
Σ DDT	29	-0,057	0,768
HCB	29	0,101	0,601
Lindano	29	0,035	0,856
Aldrin	29	-0,111	0,566
Endrin	29	-0,331	0,080
Dieldrin	27	-0,098	0,627
E-I	29	0,277	0,145
Σ Endosulfan	29	-0,231	0,228

ng/g; Coeficiente de correlación de Pearson

En cuanto a la posible relación existente entre la opción terapéutica y la exposición a pesticidas la tabla demuestra que no hay asociación entre niveles de pesticidas y radioterapia.

Pesticida/ Radioterapia	SI			NO			PK-W	PAnova
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	30	10,15	8,16	4	17,79	12,36	0,219	0,235
p, p´ DDT	30	35,50	36,30	4	39,65	36,03	0,809	0,874
p, p´ DDE	31	419,72	272,38	4	393,19	117,65	1,000	0,742
Σ DDT	31	582,11	371,77	4	485,81	147,53	0,917	0,920
HCB	31	176,34	204,25	4	175,32	33,68	0,276	0,476
Lindano	31	37,63	108,24	4	20,41	3,79	0,756	0,645
Aldrin	31	6,39	7,59	4	5,72	6,37	0,910	0,914
Endrin	31	66,23	105,01	4	29,66	20,11	0,678	0,806
Dieldrin	29	25,90	37,85	4	15,62	9,73	0,956	0,765
E-I	31	20,98	26,07	4	15,39	9,29	0,959	0,658
Σ endosulfan	31	111,98	100,72	4	209,7	269,16	0,641	0,506

* (ng/g); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Los niveles medios de p, p´ DDE, Σ DDT y endrin en el tejido adiposo de la glándula mamaria en el momento de la operación quirúrgica son mayores en

las pacientes que no reciben quimioterapia prequirúrgica que en aquellas que si la reciben. Esta asociación es estadísticamente significativa ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,012$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,023$ para o, p_{DDE} , $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,001$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,001$ para Σ DDT y $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,060$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,014$ para endrín). Además existen indicios de significación estadística para la asociación entre niveles de o, p_{DDT} y dieldrín y la quimioterapia preoperatoria, de modo que, por término medio, las mujeres que no reciben el tratamiento neoadyuvante tienen niveles más altos de estos dos pesticidas en la grasa de la mama que aquellas pacientes que sí reciben el tratamiento ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,052$ para o, p_{DDT} y $p_{\text{ANOVA}}=0,149$ para dieldrín).

Pesticida/ Quimioterapia Preoperatoria	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p_{DDT}	6	5,53	3,91	28	12,23	9,22	0,052	0,151
p, p_{DDT}	7	24,20	35,01	27	39,04	35,94	0,314	0,342
p, p_{DDE}	7	227,62	107,02	28	463,9	264,46	0,012	0,023
Σ DDT	7	278,97	122,89	28	644,14	355,24	0,001	0,001
HCB	7	102,27	65,34	28	194,71	209,19	0,161	0,563
Lindano	7	18,60	7,91	28	39,93	113,80	0,711	0,770
Aldrín	7	5,75	7,23	28	6,45	7,54	0,822	0,864
Endrín	7	17,93	26,37	28	73,08	108,11	0,060	0,014
Diieldrín	7	10,33	11,97	26	28,51	39,03	0,158	0,149
E-I	7	17,82	17,48	28	20,98	26,43	0,967	0,697
Σ endosulfan	7	58,96	25,48	28	139,20	138,19	0,070	0,236

* (ng/g); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Las participantes que no recibieron tratamiento quimioterápico adyuvante tienen niveles en el tejido graso mamario más altos de HCB que aquellas que si lo recibieron ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,003$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,024$). Como se puede ver, en esta asociación existe una alta significación estadística. Además se encuentra, que los niveles de p, p_{DDE} y de la Σ DDT, son también más altos en

la grasa mamaria en las pacientes que no son sometidas a quimioterapia postoperatoria, pero para esta correlación, sólo se cuenta con indicios de significación estadística ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,108$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,139$ para p, p´DDE y $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,083$ para Σ DDT).

Pesticida/ Quimioterapia Postoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	27	10,43	8,90	7	13,42	9,01	0,297	0,234
p, p´ DDT	27	35,17	37,81	7	39,14	28,61	0,506	0,192
p, p´ DDE	28	397,49	281,37	7	493,48	115,98	0,108	0,139
Σ DDT	28	549,91	385,03	7	655,90	172,68	0,083	0,171
HCB	28	125,04	88,61	7	380,94	335,74	0,003	0,024
Lindano	28	39,29	113,86	7	21,14	10,69	0,433	0,834
Aldrín	28	6,34	7,35	7	6,22	8,08	0,928	0,899
Endrín	28	70,86	109,37	7	26,82	22,30	0,757	0,616
Dieldrín	26	27,35	39,37	7	14,64	13,68	0,659	0,700
E-I	28	22,59	27,07	7	11,37	6,69	0,409	0,831
Σ endosulfan	28	114,41	104,69	7	158,14	203,69	0,934	0,384

* (ng/g); Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Por último, se observa que las pacientes que son tratadas quirúrgicamente mediante tumorectomía más linfadenectomía axilar, tienen niveles medios más altos de HCB, endrín, dieldrín y Σ endosulfán que aquellas que son sometidas a cuadrantectomía o mastectomía ($p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,017$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,078$ para HCB, $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,007$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,002$ para endrín, $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,016$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,049$ para dieldrín y $p_{\text{Kruskal-Wallis}}=0,017$ y $p_{\text{ANOVA}}=0,035$ para Σ DDT). Como puede verse, en esta correlación existe una alta significación estadística.

Pesticida/ Tipo de Cirugía	Tumorectomía + VA			Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			P K-W	P Anova
	n	Media*	DS	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
o, p´ DDT	4	12,10	8,57	14	11,58	10,31	16	10,31	8,07	0,783	0,918
p, p´ DDT	4	30,9	35,67	13	36,97	33,69	17	36,41	39,21	0,745	0,672
p, p´ DDE	4	542,92	161,89	14	375,37	276,60	17	421,00	263,23	0,274	0,250
Σ DDT	4	653,62	291,69	14	625,38	447,79	17	507,00	278,87	0,697	0,632
HCB	4	257,07	152,16	14	151,04	275,31	17	177,94	101,58	0,017	0,078
Lindano	4	15,64	11,98	14	18,91	9,21	17	54,16	145,71	0,873	0,739
Aldrin	4	11,6	8,89	14	4,65	6,41	17	6,42	7,60	0,279	0,352
Endrin	4	229,26	180,40	14	63,27	80,12	17	21,71	31,86	0,007	0,002
Dieldrin	4	91,07	66,00	12	16,21	18,12	17	14,98	15,83	0,016	0,049
E-I	4	27,20	42,96	14	26,48	30,08	17	13,68	11,14	0,428	0,210
Σ Endosulfan	4	281,78	125,61	14	102,49	83,61	17	102,85	137,78	0,017	0,035

* (ng/g); VA: Vaciamiento axilar; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

4.3.4 Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β estimada en el tejido adiposo mamario en la intervención quirúrgica y las distintas variables consideradas

Una forma indirecta de estimar la exposición es mediante la medida de la TEXB en el extracto de tejido mamario. Se muestran a continuación los resultados obtenidos en el estudio de la asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β (TEXB α y β) en el momento de la intervención y las distintas variables.

4.3.4.a Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β en grasa mamaria en la intervención quirúrgica y la edad de las pacientes

La tabla que se muestra seguidamente recoge los datos de la asociación (correlación de Pearson) entre la TEXB de las fracciones cromatográficas α y β y la edad de las pacientes.

	Edad		
	n	r	p
Alfa (Eq/ml)	22	-0,009	0,967
Alfa (Eq/g grasa)	22	-0,002	0,992
Beta (Eq/ml)	33	0,128	0,478
Beta (Eq/g grasa)	33	0,194	0,280

Coefficiente de correlación de Pearson

No se encuentra asociación entre la edad y la estrogenicidad de las fracciones cromatográficas α y β .

La tabla que se muestra a continuación recoge los datos de la correlación de Spearman para ambas variables.

	Edad		
	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	22	-0,423	0,050
Alfa (Eeq/g grasa)	22	-0,319	0,148
Beta (Eeq/ml)	33	-0,005	0,980
Beta (Eeq/g grasa)	33	0,041	0,819

Coefficiente de correlación de Spearman

Como se puede observar parece existir cierta asociación entre la TEXB de la fracción cromatográfica α y la edad, de tal manera que cuando se incrementa la edad de las pacientes disminuye la carga estrogénica atribuida a xenoestrógenos.

4.3.4.b Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β en grasa mamaria en la intervención quirúrgica y las variables obstétricas

La tabla que se adjunta recoge los datos de la asociación (correlación de Pearson) entre la TEXB de las fracciones cromatográficas α y β y el hecho de haber estado o no embarazada.

E-SCREEN/ Embarazo	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eeq/ml)	19	139,52	601,89	3	879,08	1516,35	0,077	0,060
Alfa (Eeq/g grasa)	19	283,97	1219,50	3	1926,88	3319,58	0,028	0,037
Beta (Eeq/ml)	28	6,65	9,12	5	929,95	2068,39	0,192	0,039
Beta (Eeq/g grasa)	28	15,21	17,83	5	2049,69	4556,15	0,248	0,036

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como se deduce de los datos presentados, parece haber una relación estadísticamente significativa entre embarazo y carga estrogénica α y β , de tal modo que ésta es significativamente menor en pacientes que han tenido uno o más embarazos.

En la siguiente tabla se muestran los datos de la asociación (correlación de Pearson) entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β y el número de hijos nacidos vivos y el número de meses de lactancia materna.

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
Alfa (Eq/ml)	22	-0,297	0,179	18	-0,332	0,179
Alfa (Eq/g grasa)	22	-0,329	0,135	18	-0,381	0,119
Beta (Eq/ml)	33	-0,188	0,295	29	-0,109	0,572
Beta (Eq/g grasa)	33	-0,221	0,216	29	-0,077	0,693

Coefficiente de correlación de Pearson

Existe una asociación inversa entre el número de hijos nacidos vivos y la carga estrogénica de la fracción cromatográfica alfa (Eq/g grasa). También se encuentra asociación negativa entre los meses de lactancia materna y la carga estrogénica de la fracción cromatográfica alfa (Eq/g grasa). De esta forma, cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos y mayor el número de meses de lactancia materna, menor es la carga estrogénica de la fracción alfa (Eq/g de grasa). Sin embargo hay que destacar que para estas dos asociaciones existen indicios de significación estadística ($p=0,135$ y $p=0,119$, respectivamente).

La siguiente tabla muestra los resultados de la asociación entre las mismas variables pero tras la aplicación del test de correlación de Spearman.

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	22	-0,290	0,191	18	-0,383	0,117
Alfa (Eeq/g grasa)	22	-0,347	0,114	18	-0,457	0,056
Beta (Eeq/ml)	33	-0,083	0,646	29	-0,083	0,669
Beta (Eeq/g grasa)	33	-0,108	0,550	29	-0,003	0,988

Coefficiente de correlación de Spearman

Cuando se aplica el test de correlación de Spearman se observa igualmente una asociación inversa entre la duración de la lactancia y la carga estrogénica de la fracción alfa, de tal manera que ésta es menor cuanto más tiempo se ha lactado.

4.3.3.c Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β en grasa mamaria en la intervención quirúrgica y el IMC al inicio del estudio

En la siguiente tabla se muestran los datos de la asociación (correlación de Pearson) entre la TEXB de las fracciones cromatográficas α y β y el IMC obtenido en el momento de la operación quirúrgica.

	IMC intervención		
	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	22	-0,183	0,416
Alfa (Eeq/g grasa)	22	-0,220	0,325
Beta (Eeq/ml)	33	-0,038	0,833
Beta (Eeq/g grasa)	33	-0,066	0,716

Coefficiente de correlación de Pearson

No se ha encontrado asociación estadísticamente significativa.

En la tabla siguiente aparecen los resultados de la asociación entre las mismas variables pero con la aplicación del test de correlación de Spearman.

	IMC intervención		
	n	r	p
Alfa (Eq/ml)	22	-0,444	0,038
Alfa (Eq/g grasa)	22	-0,456	0,033
Beta (Eq/ml)	33	0,053	0,768
Beta (Eq/g grasa)	33	0,054	0,763

Coefficiente de correlación de Spearman

A diferencia de lo que ocurría tras la aplicación del test de correlación de Pearson que no mostraba asociación entre TEXB y el IMC en la intervención, sí se encuentra asociación significativa y de carácter inverso cuando el estadístico aplicado es el test de correlación de Spearman. Parece que la carga estrogénica asociada a contaminantes exógenos (TEXB α) es menor cuanto mayor es el IMC de las pacientes.

4.3.4.d Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β en grasa mamaria en la intervención quirúrgica y variables de formación y ocupación laboral

En la tabla que sigue se muestran los datos de la asociación (correlación de Pearson) entre la TEXB de las fracciones cromatográficas α y β y el porcentaje de ruralidad y nivel educativo.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	22	-0,092	0,685	22	0,083	0,715
Alfa (Eeq/g grasa)	22	-0,103	0,647	22	0,059	0,795
Beta (Eeq/ml)	33	-0,121	0,501	33	-0,154	0,393
Beta (Eeq/g grasa)	33	-0,095	0,597	33	-0,244	0,171

Coefficiente de correlación de Pearson

En la siguiente tabla aparecen los datos de la asociación (correlación de Spearman) entre la TEXB de las fracciones cromatográficas α y β la ruralidad y el nivel de escolaridad.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	22	-0,068	0,764	22	0,376	0,085
Alfa (Eeq/g grasa)	22	-0,098	0,665	22	0,268	0,228
Beta (Eeq/ml)	33	-0,173	0,334	33	-0,069	0,702
Beta (Eeq/g grasa)	33	-0,164	0,361	33	-0,140	0,437

Coefficiente de correlación de Spearman

No se ha encontrado asociación entre TEXB α y β y el porcentaje de ruralidad o de nivel de escolaridad. Tan sólo la fracción α , expresada en Eeq/ml, se asoció positivamente con el nivel de escolaridad ($p=0,085$), de tal manera que TEXB α es mayor cuanto mayor es el nivel escolar alcanzado.

A continuación se muestran los datos de la asociación (tests de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA) entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β y el porcentaje de ruralidad y nivel educativo.

E-SCREEN/ Agricultura	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eq/ml)	7	1,36	2,15	15	351,91	923,89	0,113	0,137
Alfa (Eq/g grasa)	7	3,71	4,73	15	743,35	1949,22	0,180	0,128
Beta (Eq/ml)	12	6,06	6,63	21	226,82	1008,94	0,940	0,814
Beta (Eq/g grasa)	12	14,55	12,23	21	499,99	2222,63	0,708	0,925

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Se muestran en la siguiente tabla los resultados de la asociación (tests de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA) entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β el uso continuado de insecticidas.

E-SCREEN/ Uso insecticidas	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eq/ml)	3	2,42	3,24	19	277,94	827,98	0,811	0,626
Alfa (Eq/g grasa)	3	6,97	6,11	19	587,12	1746,93	0,774	0,743
Beta (Eq/ml)	3	8,27	5,98	30	160,37	844,22	0,381	0,525
Beta (Eq/g grasa)	3	20,23	6,11	30	353,79	1859,73	0,234	0,425

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

De nuevo no parece existir asociación entre el trabajo agrícola y el uso de insecticidas y la TEXTB α ó β , aunque hay una tendencia muy acusada para presentar mayores niveles de carga estrogénica en aquellas mujeres que no se han dedicado a la ocupación agrícola, aunque no se alcance la significación estadística.

4.3.4.e Asociación entre la carga estrogénica total efectiva α y β grasa mamaria en la intervención quirúrgica y variables de interés clínico

En la siguiente tabla se muestran los resultados de la asociación (correlación de Pearson) entre la TEXB de las fracciones cromatográficas α y β y el estadio tumoral.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	19	-0,164	0,504
Alfa (Eeq/g grasa)	19	-0,246	0,310
Beta (Eeq/ml)	28	0,028	0,886
Beta (Eeq/g grasa)	28	-0,075	0,705

Coefficiente de correlación de Pearson

Cuando para las mismas variables se aplica el test de correlación de Spearman, se obtienen los resultados que se muestran en la siguiente tabla.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
Alfa (Eeq/ml)	19	-0,155	0,526
Alfa (Eeq/g grasa)	19	-0,361	0,129
Beta (Eeq/ml)	28	0,079	0,690
Beta (Eeq/g grasa)	28	-0,058	0,768

Coefficiente de correlación de Spearman

La aplicación de los tests de correlación de Pearson y Spearman han servido para demostrar que tan sólo la TEXB α se asocia con el estadio tumoral, de tal manera que estadios clínicos más avanzados presentan menor carga estrogénica. Para esta asociación inversa existen indicios de significación estadística ($p=0,129$).

Se muestran en la siguiente tabla los resultados de la asociación, mediante la aplicación de los tests de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA, entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β y el hecho de haber o no recibido radioterapia.

E-SCREEN/ Radioterapia	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eeq/ml)	19	278,21	827,88	3	0,73	0,46	0,363	0,418
Alfa (Eeq/g grasa)	19	587,96	1746,63	3	1,62	1,12	0,271	0,339
Beta (Eeq/ml)	29	165,58	858,67	4	8,50	9,46	0,699	0,972
Beta (Eeq/g grasa)	29	365,06	1891,60	4	21,90	14,70	0,205	0,367

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

La siguiente tabla recoge los resultados de la asociación, mediante la aplicación de los tests de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA, entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β y el hecho de haber o no recibido quimioterapia neoadyuvante.

E-SCREEN/ Quimioterapia preoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eeq/ml)	4	2,91	2,51	18	293,14	849,25	0,250	0,924
Alfa (Eeq/g grasa)	4	10,19	10,61	18	618,63	1792,00	0,394	0,856
Beta (Eeq/ml)	7	9,07	11,92	26	183,55	906,93	0,567	0,805
Beta (Eeq/g grasa)	7	21,52	24,17	26	404,76	1997,89	0,660	0,851

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

No se ha encontrado asociación estadística en ninguno de los casos.

Se recogen ahora los datos de la correlación, mediante la aplicación de los tests de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA, entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β y el hecho de haber o no recibido quimioterapia postoperatoria.

E-SCREEN/ Quimioterapia postoperatoria	SI			NO			P K-W	P Anova
	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eeq/ml)	18	147,56	618,29	4	658,01	1314,66	0,865	0,457
Alfa (Eeq/g grasa)	18	300,45	1252,73	4	1442,01	2878,66	0,670	0,424
Beta (Eeq/ml)	27	6,77	9,24	6	775,52	1888,30	0,427	0,174
Beta (Eeq/g grasa)	27	14,84	18,24	6	1712,28	4158,11	0,113	0,019

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Se muestran a continuación los datos de la correlación, mediante la aplicación de los tests de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA, entre la TEXTB de las fracciones cromatográficas α y β y el tipo de cirugía.

E-SCREEN/ Tipo Cirugía	Tumorectomía + VA			Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			P K-W	P Anova
	n	Media	DS	n	Media	DS	n	Media	DS		
Alfa (Eeq/ml)	3	2,68	2,99	7	1,33	1,59	12	439,23	1022,14	0,445	0,373
Alfa (Eeq/g grasa)	3	8,64	3,47	7	2,64	3,17	12	927,64	2156,48	0,116	0,238
Beta (Eeq/ml)	3	5,82	6,64	14	7,37	9,03	16	294,71	1156,11	0,931	0,898
Beta (Eeq/g grasa)	3	18,16	7,64	15	13,75	16,41	16	651,72	2546,27	0,609	0,484

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Por último, la aplicación de los tests de correlación Kruskal-Wallis y análisis de la varianza para el estudio de la asociación entre las variables clínicas terapéuticas y la TEXTB, tan sólo muestran una asociación estadísticamente significativa entre TEXTB β y la ausencia de quimioterapia postoperatoria, situación que se dio únicamente en seis pacientes, y que parecen sugerir que las pacientes sin quimioterapia tienen mayor exposición en términos de Eeq de estradiol que aquellas que sí fueron tratadas postoperatoriamente con agentes antineoplásicos.

4.4 ESTUDIO ESTADÍSTICO BIVARIANTE DE LA EXPOSICIÓN A PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS ESTIMADA EN EL CURSO DE LA EVOLUCIÓN DE LA ENFERMEDAD (3 MESES) Y LAS VARIABLES DE ESTUDIO SELECCIONADAS

El protocolo de trabajo diseñado en este estudio incluye el seguimiento de las pacientes reclutadas por un periodo de tres meses, de tal manera que, en una de las revisiones clínicas programadas se contactaba de nuevo con ellas con objeto de obtener una nueva muestra de sangre y de tejido adiposo. La exposición a pesticidas organoclorados fue estimada en suero y en grasa mediante las técnicas descritas en el análisis cromatográfico y al igual que la carga estrogénica total efectiva (TEXB) que se hizo siguiendo un protocolo idéntico pero utilizando tejido adiposo abdominal.

4.4.1 Concentración de pesticidas organoclorados en sangre y tejido adiposo abdominal a los tres meses de la intervención quirúrgica

La tabla siguiente muestra los valores medios, mediana, máximo y mínimo de los diferentes pesticidas organoclorados cuantificados en el suero de las pacientes.

	n	Media*	DS	Mediana*	Mínimo*	Máximo*
o, p' DDT	9	0,32	0,07	0,35	0,25	0,39
p, p' DDT	16	0,98	0,57	0,95	0,25	1,91
o, p' DDD	22	1,05	0,52	0,92	0,25	2,09
p, p' DDE	24	0,89	0,50	0,78	0,40	2,48
Σ DDT	24	2,55	0,81	2,50	1,18	4,230
Metoxicloro	21	0,83	0,32	0,82	0,25	1,42
Mirex	13	0,73	0,47	0,55	0,33	2,08
Lindano	13	0,38	0,18	0,35	0,25	0,94
HCB	22	0,79	0,47	0,53	0,25	1,72
Vinclozolina	22	1,86	1,19	1,70	0,37	4,93
Aldrin	17	0,59	0,21	0,54	0,30	0,98
Endrin	9	0,88	0,25	0,82	0,75	1,54
Dieldrin	17	0,62	0,40	0,59	0,25	1,93
E-I	19	0,33	0,19	0,25	0,15	0,92
E-II	13	0,60	0,19	0,50	0,50	1,19
E-eter	5	0,44	0,18	0,43	0,25	0,63
E-lactona	10	1,23	1,49	0,49	0,31	4,66
E-diol	18	1,22	0,49	1,20	0,32	2,45
E-sulfato	16	0,56	0,43	0,43	0,20	1,95
Σendosulfan	24	2,52	2,42	2,34	0,19	10,99

*ng/ml de suero

A continuación aparecen los valores medios, mediana, máximo y mínimo de los diferentes pesticidas organoclorados cuantificados en el suero de las pacientes y ajustados por el contenido lipídico de la sangre.

	n	Media*	DS	Mediana*	Mínimo*	Máximo*
o, p' DDT	9	53,27	14,37	57,87	28,98	78,90
p, p' DDT	16	174,07	108,54	173,49	28,54	379,15
o, p' DDD	22	184,94	101,31	185,66	28,98	382,91
p, p' DDE	24	151,37	79,13	129,27	49,54	344,23
Σ DDT	24	442,04	176,52	439,13	155,60	958,71
Metoxicloro	21	145,62	72,06	124,86	34,66	343,51
Mirex	13	132,38	85,78	92,05	54,55	346,72
Lindano	13	68,63	39,25	62,82	34,45	172,75
HCB	22	134,00	83,79	96,53	37,89	329,94
Vinclozolina	22	335,32	257,19	289,29	56,08	1193,93
Aldrín	17	102,48	46,71	83,65	37,21	200,73
Endrin	9	143,44	25,81	143,74	103,36	178,14
Dieldrin	17	105,71	68,83	98,05	45,82	321,77
E-I	19	56,61	36,14	42,02	21,08	153,73
E-II	13	105,05	40,18	91,64	68,90	198,32
E-eter	5	85,54	45,32	79,58	36,93	152,48
E-lactona	10	232,27	341,80	86,18	45,92	1130,42
E-diol	18	210,10	89,79	199,57	64,74	408,28
E-sulfato	16	101,88	104,89	79,86	36,56	472,72
Σendosulfan	23	469,07	538,92	393,56	40,57	2664,97

*ng/gramo de lípido

La tabla siguiente recoge los valores medios, mediana, máximo y mínimo de los diferentes pesticidas organoclorados cuantificados en el tejido adiposo tomado en la biopsia abdominal.

	n	Media*	DS	Mediana*	Mínimo*	Máximo*
o, p' DDT	32	10,21	15,60	4,35	0,20	82,06
p, p' DDT	33	39,64	40,51	23,16	0,20	138,09
o, p' DDD	29	69,76	106,74	3,37	0,20	345,23
p, p' DDE	35	338,64	207,54	303,48	50,40	796,99
Σ DDT	35	437,44	249,78	401,42	76,11	961,89
Metoxicloro	29	21,47	19,46	17,96	0,20	60,26
Mirex	20	20,04	15,07	20,97	0,20	50,05
Lindano	35	21,24	14,38	19,16	0,20	58,94
HCB	35	148,77	106,79	117,88	2,82	450,94
Vinclozolina	28	79,55	82,32	46,11	6,80	294,23
Aldrin	33	7,72	9,78	0,20	0,20	24,65
Endrin	35	59,04	88,74	23,78	0,60	461,08
Dieldrin	33	16,67	17,57	12,81	0,20	65,01
E-I	34	15,33	26,17	5,06	0,10	137,78
E-II	32	2,95	6,82	0,40	0,40	32,56
E-eter	25	6,14	8,33	4,86	1,05	44,47
E-lactona	29	34,51	55,27	12,45	2,23	265,75
E-diol	21	49,16	35,49	45,22	5,19	128,81
E-sulfato	33	10,79	15,14	0,10	0,10	44,55
Σendosulfan	35	98,51	89,29	79,38	0,60	369,05

* ng/g tejido adiposo

Sigue la tabla que muestra los valores medios, mediana, máximo y mínimo de la carga estrogénica total efectiva (TEXB) de las fracciones α y β de los extractos de tejido adiposo abdominal.

	n	Media	DS	Mediana	Mínimo	Máximo
Alfa (pM E₂/ml)	27	1,89	3,25	1,00	0,10	15,00
Alfa (pM E₂/g lípido)	27	10,93	19,35	5,390	0,36	90,00
Beta (pM E₂/ml)	35	19,00	42,99	3,05	0,37	223,00
Beta (pM E₂/g lípido)	35	127,11	345,42	13,06	0,76	1910,00

Fracción α y β

4.4.2. Relación entre las concentraciones de pesticidas organoclorados y carga estrogénica estimadas en el momento de la intervención quirúrgica y a los tres meses de seguimiento

La tabla siguiente muestra los resultados de la aplicación del test de Wilcoxon a las concentraciones medias de pesticidas organoclorados medidos en el mismo paciente en tiempo 0 y tres meses más tarde.

		n	Media*	DS	Mediana*	Mínimo*	Máximo*	Test Wilcoxon p
o, p' DDT	Intervención	8	0,35	0,12	0,31	0,25	0,54	1,000
	3 meses	9	0,32	0,07	0,35	0,25	0,39	
p, p' DDT	Intervención	16	0,76	0,60	0,63	0,25	2,49	0,547
	3 meses	16	0,98	0,57	0,95	0,25	1,91	
o, p' DDD	Intervención	15	1,52	0,61	1,15	0,25	2,76	0,765
	3 meses	22	1,05	0,52	0,92	0,25	2,09	
p, p' DDE	Intervención	17	0,95	0,73	0,62	0,38	3,36	0,323
	3 meses	24	0,89	0,50	0,78	0,40	2,48	
Σ DDT	Intervención	17	2,75	1,15	2,45	1,33	5,06	0,847
	3 meses	24	2,55	0,81	2,50	1,18	4,230	
Metoxicloro	Intervención	13	0,96	0,32	0,96	0,53	1,67	0,322
	3 meses	21	0,83	0,32	0,82	0,25	1,42	
Mirex	Intervención	9	0,49	1,65	0,47	0,25	0,76	0,813
	3 meses	13	0,73	0,47	0,55	0,33	2,08	
Lindano	Intervención	12	0,45	0,28	0,30	0,25	1,04	0,156
	3 meses	13	0,38	0,18	0,35	0,25	0,94	
HCB	Intervención	14	0,90	0,39	0,78	0,27	1,61	0,432
	3 meses	22	0,79	0,47	0,53	0,25	1,72	
Vinclozolina	Intervención	15	2,01	1,20	1,63	0,37	4,33	0,638
	3 meses	22	1,86	1,19	1,70	0,37	4,93	
Aldrin	Intervención	15	0,64	0,26	0,67	0,25	1,18	0,570
	3 meses	17	0,59	0,21	0,54	0,30	0,98	
Endrin	Intervención	10	1,53	2,02	0,85	0,75	7,27	0,875
	3 meses	9	0,88	0,25	0,82	0,75	1,54	
Dieldrin	Intervención	13	0,73	0,52	0,56	0,27	2,01	0,846
	3 meses	17	0,62	0,40	0,59	0,25	1,93	
E-I	Intervención	13	0,41	0,33	0,30	0,13	1,41	0,922
	3 meses	19	0,33	0,19	0,25	0,15	0,92	
E-II	Intervención	10	0,55	0,12	0,50	0,50	0,87	0,750
	3 meses	13	0,60	0,19	0,50	0,50	1,19	
E-eter	Intervención	7	0,28	0,07	0,27	0,15	0,37	0,250
	3 meses	5	0,44	0,18	0,43	0,25	0,63	
E-lactona	Intervención	7	4,16	5,42	2,45	0,32	14,84	1,000
	3 meses	10	1,23	1,49	0,49	0,31	4,66	
E-dioli	Intervención	13	1,39	0,94	1,05	0,42	3,39	0,652
	3 meses	18	1,22	0,49	1,20	0,32	2,45	
E-sulfato	Intervención	11	0,47	0,26	0,39	0,13	0,83	0,938
	3 meses	16	0,56	0,43	0,43	0,20	1,95	
Σendosulfan	Intervención	17	4,23	5,17	2,50	0,33	20,78	0,890
	3 meses	24	2,52	2,42	2,34	0,19	10,99	

*ng/ml de suero

No se han encontrado diferencias significativas para ningún compuesto ($p > 0,05$) en las muestras de suero entre el instante de la intervención (ng/ml) y los tres meses, aunque sí es necesario destacar niveles mayores de pesticidas en

el momento de la intervención que en la primera revisión (ng/ml), en algunos de los casos.

La tabla siguiente muestra los resultados de la aplicación del test de Wilcoxon a las diferencias entre los niveles de pesticidas en suero a los 3 meses y al comienzo del estudio ajustados por la carga lipídica (ng/g).

		n	Media*	DS	Mediana*	Mínimo*	Máximo*	Test Wilcoxon p
o, p' DDT	Intervención	8	69,31	22,84	68,73	41,63	99,95	0,250
	3 meses	9	53,27	14,37	57,87	28,98	78,90	
p, p' DDT	Intervención	16	151,94	151,38	111,30	45,33	602,66	0,910
	3 meses	16	174,07	108,54	173,49	28,54	379,15	
o, p' DDD	Intervención	15	214,51	121,86	195,61	50,84	495,24	0,519
	3 meses	22	184,94	101,31	185,66	28,98	382,91	
p, p' DDE	Intervención	17	192,47	186,41	135,94	58,46	854,06	0,934
	3 meses	24	151,37	79,13	129,27	49,54	344,23	
Σ DDT	Intervención	17	538,33	298,21	453,54	242,98	1283,73	0,208
	3 meses	24	442,04	176,52	439,13	155,60	958,71	
Metoxicloro	Intervención	13	190,93	91,23	159,21	106,38	403,88	0,004
	3 meses	21	145,62	72,06	124,86	34,66	343,51	
Mirex	Intervención	9	96,23	47,65	78,64	42,30	194,24	1,000
	3 meses	13	132,38	85,78	92,05	54,55	346,72	
Lindano	Intervención	12	88,24	66,44	65,48	39,00	264,04	0,063
	3 meses	13	68,63	39,25	62,82	34,45	172,75	
HCB	Intervención	14	168,31	72,87	143,31	42,33	280,70	0,232
	3 meses	22	134,00	83,79	96,53	37,89	329,94	
Vinclozolina	Intervención	15	380,40	249,91	322,54	82,40	1048,72	0,638
	3 meses	22	335,32	257,19	289,29	56,08	1193,93	
Aldrin	Intervención	15	122,62	51,67	116,33	45,52	199,17	0,322
	3 meses	17	102,48	46,71	83,65	37,21	200,73	
Endrin	Intervención	10	329,46	534,39	164,08	104,94	1845,47	0,125
	3 meses	9	143,44	25,81	143,74	103,36	178,14	
Dieldrin	Intervención	13	137,59	90,70	102,43	38,61	297,97	0,492
	3 meses	17	105,71	68,83	98,05	45,82	321,77	
E-I	Intervención	13	84,32	86,53	62,03	25,42	357,97	0,625
	3 meses	19	56,61	36,14	42,02	21,08	153,73	
E-II	Intervención	10	101,92	29,52	91,88	64,78	157,75	0,156
	3 meses	13	105,05	40,18	91,64	68,90	198,32	
E-eter	Intervención	7	58,15	23,31	59,95	23,26	92,66	0,250
	3 meses	5	85,54	45,32	79,58	36,93	152,48	
E-lactona	Intervención	7	794,96	1019,43	445,13	48,85	2663,42	1,000
	3 meses	10	232,27	341,80	86,18	45,92	1130,42	
E-dioli	Intervención	13	269,15	216,64	175,85	65,13	860,66	0,301
	3 meses	18	210,10	89,79	199,57	64,74	408,28	
E-sulfato	Intervención	11	92,68	58,06	71,19	21,15	196,30	0,297
	3 meses	16	101,88	104,89	79,86	36,56	472,72	
Σendosulfan	Intervención	17	816,26	995,87	416,37	80,11	3729,58	0,599
	3 meses	23	469,07	538,92	393,56	40,57	2664,97	

ng/gramo de lípido

Cuando los pesticidas se han medido en suero y los resultados se han expresado por gramo de lípido, se han encontrado diferencias altamente significativas para el metoxicloro (p=0,040), entre el momento de la intervención y la primera revisión (3 meses), en el sentido de que los niveles a los 3 meses son significativamente inferiores a los niveles en la intervención. En el caso del lindano y endrín existen indicios de significación estadística

($p=0,063$ y $p=0,125$, respectivamente), de manera que los niveles medios en suero de lindano y endrín, ajustados por la carga lipídica, son menores a los 3 meses del seguimiento que al comienzo del estudio.

Por último, la tabla siguiente muestra la aplicación del test estadístico de Wilcoxon a diferencias entre los niveles de residuos organoclorados en tejido adiposo abdominal (3 meses del seguimiento) y los niveles en tejido adiposo mamario (inicio del estudio).

		n	Media*	DS	Mediana*	Mínimo*	Máximo*	Test Wilcoxon p
o, p´ DDT	Intervención	34	11,05	8,87	9,51	0,20	39,23	0,517
	3 meses	32	10,21	15,60	4,35	0,20	82,06	
p, p´ DDT	Intervención	34	35,99	35,74	24,09	0,20	127,51	0,670
	3 meses	33	39,64	40,51	23,16	0,20	138,09	
o, p´ DDD	Intervención	32	124,79	177,98	45,01	0,20	591,28	0,165
	3 meses	29	69,76	106,74	3,37	0,20	345,23	
p, p´ DDE	Intervención	35	416,69	258,37	393,09	65,59	1262,60	0,149
	3 meses	35	338,64	207,54	303,48	50,40	796,99	
Σ DDT	Intervención	35	571,11	353,33	506,53	104,28	1726,42	0,123
	3 meses	35	437,44	249,78	401,42	76,11	961,89	
Metoxicloro	Intervención	33	24,02	20,42	21,48	0,20	101,06	0,849
	3 meses	29	21,47	19,46	17,96	0,20	60,26	
Mirex	Intervención	26	34,71	50,34	18,90	0,20	204,83	0,296
	3 meses	20	20,04	15,07	20,97	0,20	50,05	
Lindano	Intervención	35	35,66	101,84	19,80	0,20	618,68	0,554
	3 meses	35	21,24	14,38	19,16	0,20	58,94	
HCB	Intervención	35	176,23	192,13	138,17	0,20	1092,47	0,645
	3 meses	35	148,77	106,79	117,88	2,82	450,94	
Vinclozolina	Intervención	26	48,42	49,76	31,09	4,20	196,94	0,288
	3 meses	28	79,55	82,32	46,11	6,80	294,23	
Aldrin	Intervención	35	6,31	7,37	0,20	0,20	22,20	0,374
	3 meses	33	7,72	9,78	0,20	0,20	24,65	
Endrin	Intervención	35	62,05	99,53	19,21	0,60	427,62	0,987
	3 meses	35	59,04	88,74	23,78	0,60	461,08	
Dieldrin	Intervención	33	24,65	35,69	15,42	0,20	155,98	1,000
	3 meses	33	16,67	17,57	12,81	0,20	65,01	
E-I	Intervención	35	20,35	24,71	14,76	0,10	118,05	0,080
	3 meses	34	15,33	26,17	5,06	0,10	137,78	
E-II	Intervención	32	5,55	8,12	2,80	0,40	27,42	0,196
	3 meses	32	2,95	6,82	0,40	0,40	32,56	
E-eter	Intervención	23	4,07	2,54	3,04	1,15	10,32	0,263
	3 meses	25	6,14	8,33	4,86	1,05	44,47	
E-lactona	Intervención	27	16,57	27,79	5,44	1,28	117,01	0,321
	3 meses	29	34,51	55,27	12,45	2,23	265,75	
E-diol	Intervención	31	59,12	81,02	39,88	7,33	457,37	0,891
	3 meses	21	49,16	35,49	45,22	5,19	128,81	
E-sulfato	Intervención	30	25,28	44,62	8,41	0,10	187,63	0,170
	3 meses	33	10,79	15,14	0,10	0,10	44,55	
Σendosulfan	Intervención	35	123,16	127,83	82,27	6,38	608,28	0,865
	3 meses	35	98,51	89,29	79,38	0,60	369,05	

*ng/g tejido adiposo; Intervención (tejido adiposo mamario); 3 meses (tejido adiposo abdominal)

Si se considera el tejido adiposo, existen indicios de significación estadística de que los niveles de p, p´ DDE, Σ DDT y endosulfán α son menores a los 3 meses, medidos en tejido adiposo abdominal, que en el momento de la

intervención, que fueron medidos en tejido adiposo mamario ($p=0,149$, $p=0,123$ y $p=0,080$, respectivamente).

Además se presentan los resultados obtenidos en la aplicación del test de Wilcoxon a los valores de estrogenicidad de las fracciones alfa y beta (TEXB) en muestras de tejido adiposo en el ensayo biológico E-Screen.

		n	Media	DS	Mediana	Mínimo	Máximo	p
Alfa (pM E₂/ml)	Intervención	22	240,37	772,64	1,03	0,10	2630,00	0,464
	3 meses	27	1,89	3,25	1,00	0,10	15,00	
Alfa (pM E₂/g lípido)	Intervención	22	508,00	1630,12	2,38	0,20	5760,00	0,860
	3 meses	27	10,93	19,35	5,39	0,36	90,00	
Beta (pM E₂/ml)	Intervención	33	146,54	804,90	2,22	0,10	4630,00	0,491
	3 meses	35	19,00	42,99	3,05	0,37	223,00	
Beta (pM E₂/g lípido)	Intervención	33	323,47	1773,08	9,00	0,20	10200,0	0,058
	3 meses	35	127,11	345,42	13,06	0,76	1910,00	

Test Wilcoxon

Con respecto a la estrogenicidad de las fracciones alfa y beta, se han encontrado diferencias significativas para la fracción beta ($p = 0,058$), expresada ésta como pM E₂ / g lípido, entre el instante de la intervención y la primera revisión, es decir, por término medio la estrogenicidad de la fracción beta es menor a los tres meses que en la intervención, si se considera el valor de significación en $p < 0,100$.

4.4.3.1. Relación entre las diferencias estimadas para la exposición de pesticidas y carga estrogénica y las variables de estudio

Con objeto de valorar las variaciones en las medidas de exposición a pesticidas organoclorados, ya sea estimada mediante la medida del residuo químico, ya sea mediante la estimación de la carga estrogénica, efectuadas en el momento del reclutamiento y a los tres meses en el curso del seguimiento, se ha calculado para cada paciente el valor de la variable D que indica el resultado de efectuar la sustracción concentración de pesticida a los tres meses, menos la concentración del pesticida en el momento de inclusión de la paciente en la serie de estudio.

4.4.3.1.a. Asociación entre la diferencia (D) de niveles de pesticidas en sangre y los niveles de pesticidas al inicio del estudio

En las tablas que se muestran a continuación se pueden apreciar los resultados encontrados en relación a la asociación existente entre los niveles de pesticidas organoclorados medidos en el suero de las pacientes y expresado en ng/ml, es decir, no ajustado por el contenido lipídico, y la diferencia entre los niveles de pesticidas al finalizar el estudio y los niveles de estos mismos pesticidas al comienzo del seguimiento también medidos en suero y expresados en ng/ml.

Se puede apreciar que cuanto mayor es la concentración de p, p´DDT en suero al inicio del estudio, expresado en ng/ml, mayores son las diferencias de los niveles de lindano y Σ endosulfán a los 3 meses y los niveles de lindano y Σ endosulfán al inicio del seguimiento ($p=0,054$ y $p=0,090$). Así mismo, a mayor concentración p, p´DDE en la intervención mayores son las diferencias de los niveles de p, p´DDT, p, p´DDE, Σ DDT, hexaclorobenceno y lindano en suero (ng/ml) a los 3 meses y los niveles de estos pesticidas al comienzo del estudio. Tan sólo destacar que la única asociación estadísticamente significativa es para las diferencias de p, p´DDE ($p=0,009$), para el resto de resultados existen indicios de significación ($p=0,092$, $p=0,139$, $p=0,137$ y $p=0,084$, respectivamente).

	o, p' DDTi			p, p' DDTi			p, p' DDEi		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,816	0,184	4	0,500	0,500	4	0,316	0,684
D p, p' DDT	5	-0,354	0,559	9	0,276	0,472	9	0,594	0,092
D p, p' DDE	7	-0,079	0,867	14	-0,336	0,240	15	0,649	0,009
D Σ DDT	7	0,079	0,867	14	0,196	0,501	15	0,400	0,139
D HCB	6	0,213	0,686	9	0,339	0,372	10	0,505	0,137
D Lindano	4	0,258	0,742	5	0,872	0,054	6	0,754	0,084
D Aldrin	4	0,775	0,225	8	0,122	0,774	9	-0,117	0,764
D Endrin	5	-0,258	0,742	5	0,700	0,188	5	0,462	0,434
D Dieldrin	6	0,030	0,954	10	0,264	0,461	10	0,127	0,726
D E-I	7	0,197	0,672	10	-0,067	0,853	10	0,267	0,455
D Σ Endosulfan	7	0,296	0,520	14	-0,470	0,090	15	0,207	0,458

Coefficiente de correlación de Spearman

En cuanto a los niveles de la Σ de DDT en el suero al inicio de estudio se puede afirmar que cuanto mayor es la concentración de la Σ de DDT inicial, mayor es la diferencia entre los niveles de Σ de DDT a los 3 meses y la Σ de DDT en la intervención ($p=0,013$). Se encuentra la misma asociación positiva con indicios de significación estadística entre la Σ de DDT y las diferencias de p, p' DDT y lindano ($p=0,058$ y $p=0,111$, respectivamente).

	Σ DDTi		
	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,316	0,684
D p, p' DDT	9	0,650	0,058
D p, p' DDE	15	0,095	0,737
D Σ DDT	15	0,625	0,013
D HCB	10	0,115	0,751
D Lindano	6	0,714	0,111
D Aldrin	9	0,500	0,170
D Endrin	5	0,500	0,391
D Dieldrin	10	0,006	0,987
D E-I	10	0,261	0,467
D Σ Endosulfan	15	0,021	0,940

Coefficiente de correlación de Spearman

Atendiendo al HCB y al lindano se encuentran los siguientes datos. Cuanto mayor es la concentración inicial de lindano, mayores son las diferencias entre los niveles de o, p' DDT y aldrín en suero (ng/ml) a los 3 meses y los

niveles al principio del estudio. Para esta asociación existen indicios de significación estadística ($p=0,051$ y $p=0,071$). También se observa que a mayor concentración de lindano mayores son las diferencias en los niveles de p, p´DDE y lindano. Para la primera asociación existe significación estadística ($p=0,042$), mientras que para la segunda contamos con indicios de significación ($p=0,072$).

	HCB i			Lindano i		
	n	r	p	n	r	p
D o, p´ DDT	4	0,949	0,051	4	0,316	0,684
D p, p´ DDT	7	0,143	0,760	6	0,029	0,957
D p, p´ DDE	12	0,329	0,296	10	0,649	0,042
D Σ DDT	12	0,112	0,729	10	0,146	0,688
D HCB	10	0,394	0,260	8	0,333	0,420
D Lindano	6	0,543	0,266	6	0,771	0,072
D Aldrin	8	0,667	0,071	8	0,548	0,160
D Endrin	5	-0,100	0,873	5	-0,100	0,873
D Dieldrin	8	-0,381	0,352	6	0,486	0,329
D E-I	10	-0,188	0,603	9	0,100	0,797
D Σ Endosulfan	12	-0,252	0,430	10	0,006	0,987

Coefficiente de correlación de Spearman

Se encuentra una asociación positiva entre los niveles de aldrín en suero al inicio del estudio y la diferencia entre los niveles de lindano, aldrín y endrín a los 3 meses y los niveles iniciales de estos pesticidas. Hay que destacar que la única asociación estadísticamente significativa es para la diferencia en los niveles de aldrín ($p=0,041$). Para las otras dos asociaciones existen indicios de significación ($p=0,084$ y $p=0,104$). Así mismo, a mayor concentración inicial en suero expresada en ng/ml de endrín, mayor es la diferencia entre los niveles de p, p´DDE al final del seguimiento y los niveles, al principio ($p=0,002$). Igualmente, si los niveles iniciales de dieldrín son altos también es mayor la diferencia en los niveles de p, p´DDT, Σ DDT y dieldrín al final y los niveles iniciales de estos residuos ($p=0,042$, $p=0,080$ y $p=0,004$). La asociación para la diferencia de p, p´DDT y para la diferencia de dieldrín es estadísticamente significativa.

	Aldrin i			Endrin i			Dieldrin i		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,316	0,684	3	-0,866	0,333	4	-0,316	0,684
D p, p' DDT	8	-0,071	0,867	5	0,667	0,219	6	0,829	0,042
D p, p' DDE	13	0,116	0,707	8	0,908	0,002	12	0,294	0,354
D Σ DDT	13	0,297	0,324	8	0,268	0,520	12	0,524	0,080
D HCB	9	-0,025	0,949	7	0,054	0,908	9	-0,050	0,898
D Lindano	6	0,754	0,084	4	0,400	0,600	5	0,100	0,873
D Aldrin	9	0,686	0,041	5	-0,600	0,285	7	0,179	0,702
D Endrin	5	0,800	0,104	5	0,359	0,553	3	0,500	0,667
D Dieldrin	8	0,476	0,233	5	0,400	0,505	10	0,818	0,004
D E-I	10	0,248	0,489	8	0,342	0,408	8	0,310	0,456
D Σ Endosulfan	13	0,006	0,986	8	0,464	0,247	12	0,308	0,331

Coefficiente de correlación de Spearman

Analizando lo que ocurre con los endosulfanes se encuentran los siguientes resultados. Se cuenta con indicios de significación de que, a mayor concentración de endosulfán α en suero al inicio del estudio en ng/ml mayor es la diferencia entre los niveles de lindano y aldrín a los 3 meses y los niveles al comienzo del seguimiento ($p=0,072$ y $p=0,102$). Respecto a la Σ endosulfán, los resultados de la asociación positiva son estadísticamente significativos, de manera que, cuanto mayor es la concentración inicial en suero de la Σ endosulfán, mayor es la diferencia entre los niveles de p, p' DDE, endosulfán α y Σ endosulfán al inicio, que los niveles una vez concluido el estudio ($p=0,003$, $p=0,025$ y $p=0,001$).

Al realizar el ajuste de los niveles de los pesticidas por el contenido lipídico y expresarlos en ng/g de lípidos, encontramos los resultados que se muestran a continuación.

	E-I i			Σ Endosulfan i		
	n	r	p	n	r	p
D o, p´ DDT	4	0,316	0,684	4	-0,632	0,368
D p, p´ DDT	6	0,143	0,787	9	0,333	0,381
D p, p´ DDE	11	0,196	0,564	15	0,711	0,003
D Σ DDT	11	0,418	0,201	15	0,329	0,232
D HCB	9	0,433	0,244	10	0,042	0,907
D Lindano	6	0,771	0,072	6	-0,029	0,957
D Aldrin	8	0,619	0,102	9	-0,167	0,668
D Endrin	5	0,700	0,188	5	0,300	0,624
D Dieldrin	7	0,036	0,939	10	0,333	0,347
D E-I	10	0,467	0,174	10	0,697	0,025
D Σ Endosulfan	11	0,309	0,355	15	0,757	0,001

Coefficiente de correlación de Spearman

Pues bien, cuanto mayor es la concentración en suero expresado en ng/g de lípido de o, p´ DDT mayor es la diferencia, medida en suero y expresada en ng/g, entre los niveles de p, p´ DDT a los 3 meses y los niveles de p, p´ DDT al inicio del estudio ($p=0,037$). Se encuentra la misma asociación positiva para la diferencia los niveles de aldrín, pero sólo se cuenta con indicios de significación estadística ($p=0,104$).

Además, a mayor concentración inicial en suero, ajustada por los lípidos, de p, p´ DDT menor es la diferencia entre los niveles de Σ endosulfán a los 3 meses y los niveles al inicio del estudio ($p=0,095$).

Ahora bien, comentario aparte merece la asociación encontrada entre los niveles de p, p´ DDE y la diferencia de pesticidas en suero expresados como ng/g de grasa. Cuanto mayores son los niveles de p, p´ DDE iniciales mayor es la diferencia entre los niveles de p, p´ DDT, p, p´ DDE, Σ DDT, hexaclorobenceno, lindano y endrín a los 3 meses y los niveles al comienzo del seguimiento ($p=0,139$, $p=0,006$, $p=0,022$, $p=0,019$, $p=0,042$ y $p=0,000$). Todas estas asociaciones son estadísticamente significativas salvo para la diferencia de p, p´ DDT, en la que se encuentran sólo indicios de significación. Además destacar que el coeficiente de correlación para la diferencia en los niveles de endrín es $r=1,000$.

	o, p' DDT i			p, p' DDT i			p, p' DDE i		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,800	0,200	4	0,400	0,600	4	0,200	0,800
D p, p' DDT	5	0,900	0,037	9	0,433	0,244	9	0,533	0,139
D p, p' DDE	7	0,143	0,760	14	-0,275	0,342	15	0,671	0,006
D Σ DDT	7	0,071	0,879	14	0,125	0,670	15	0,586	0,022
D HCB	6	0,371	0,468	9	0,083	0,831	10	0,721	0,019
D Lindano	4	0,400	0,600	5	0,700	0,188	6	0,829	0,042
D Aldrin	5	0,800	0,104	9	0,017	0,966	10	0,176	0,627
D Endrin	4	0,400	0,600	5	0,300	0,624	5	1,000	<0,001
D Dieldrin	6	-0,086	0,872	10	0,261	0,467	10	0,224	0,533
D E-I	7	0,214	0,645	10	-0,115	0,751	10	0,224	0,533
D Σ Endosulfan	7	0,250	0,589	14	-0,464	0,095	15	0,246	0,376

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

En el mismo sentido se encuentra que, cuanto mayor es la concentración inicial en suero de la Σ DDT, mayor es la diferencia encontrada entre los niveles en suero de p, p' DDT y Σ DDT al concluir el estudio y los niveles al comienzo del mismo (p=0,030 y p=0,011, respectivamente).

	Σ DDT i		
	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,000	1,000
D p, p' DDT	9	0,717	0,030
D p, p' DDE	15	0,161	0,567
D Σ DDT	15	0,636	0,011
D HCB	10	0,018	0,960
D Lindano	6	0,371	0,468
D Aldrin	10	0,430	0,214
D Endrin	5	0,600	0,285
D Dieldrin	10	0,285	0,425
D E-I	10	0,309	0,385
D Σ Endosulfan	15	0,011	0,970

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Se puede observar que existe una asociación positiva entre los niveles iniciales en suero de hexaclorobenceno y las diferencias en los niveles de o, p' DDT, p, p' DDE y hexaclorobenceno. Es decir, cuanto mayores son los niveles de HCB en suero al comienzo del estudio mayores son las diferencias entre los

niveles de o, p´DDT, p, p´DDE y HCB a los 3 meses y los niveles en la intervención quirúrgica, es decir, al inicio del estudio. Hay que comentar que la primera asociación es estadísticamente positiva y con un coeficiente de correlación de 1 (p=0,000) y para las otras dos asociaciones existen indicios de significación estadística (p=0,106 y p=0,098).

También se aprecia que cuanto mayor es la concentración inicial de lindano en suero, y ajustada por el contenido lipídico, mayor es la diferencia entre los niveles de p, p´DDE, endrín y dieldrín a los 3 meses y los niveles iniciales de estos residuos organoclorados. Para la diferencia en los niveles de p, p´DDE y para la diferencia en los niveles de endrín existe significación estadística (p=0,003 y p=0,037). Para la diferencia en los niveles de dieldrín existen indicios de significación estadística (p=0,111).

	HCB i			Lindano i		
	n	r	p	n	r	P
D o, p´ DDT	4	1,000	<0,001	4	0,200	0,800
D p, p´ DDT	7	0,107	0,819	6	0,371	0,468
D p, p´ DDE	12	0,490	0,106	10	0,830	0,003
D Σ DDT	12	0,182	0,572	10	0,309	0,385
D HCB	10	0,552	0,098	8	0,381	0,352
D Lindano	6	0,200	0,704	6	0,657	0,156
D Aldrin	9	0,417	0,265	8	0,524	0,183
D Endrin	5	0,100	0,873	5	0,900	0,037
D Dieldrin	8	-0,190	0,651	6	0,714	0,111
D E-I	10	-0,200	0,580	9	0,150	0,700
D Σ Endosulfan	12	-0,105	0,746	10	0,261	0,467

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

En cuanto al grupo de aldrín, endrín y dieldrín estos son los resultados encontrados. Si la concentración inicial en suero de aldrín es alta, tanto mayor será la diferencia entre los niveles de aldrín y dieldrín a los 3 meses y los niveles al comienzo del seguimiento. Para la diferencia de aldrín se encuentra que la asociación es estadísticamente significativa (p=0,022), mientras que para la otra asociación existen indicios de significación (p=0,120).

Cuanto mayor es la concentración en suero al inicio del estudio expresada en ng/g de lípidos, menor es la diferencia entre los niveles de o, p´DDT a los 3 meses y los niveles al inicio. Esta asociación negativa es altamente significativa estadísticamente y además cuenta con un coeficiente de correlación de 1

($p < 0,001$). En sentido contrario se encuentran otras dos asociaciones, cuanto mayores son los niveles en suero de endrín, mayor es la diferencia entre los niveles de p, p´DDE y de endrín a los 3 meses y los niveles al inicio del estudio ($p = 0,037$ y $p < 0,001$). Para esta última asociación, el coeficiente de correlación también es 1.

Por último, para el dieldrín, cuanto mayores son los niveles iniciales en suero mayores son las diferencias entre los niveles de la Σ DDT, endrín y dieldrín a los 3 meses y los niveles al comienzo del seguimiento ($p = 0,106$, $p < 0,001$ y $p < 0,001$). La primera asociación cuenta con indicios de significación estadística, mientras para las otras dos existe alta significación estadística, siendo el coeficiente de correlación para la diferencia en los niveles de endrín de 1.

	Aldrin i			Endrin i			Dieldrin i		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
D o, p´ DDT	4	0,000	1,000	3	-1,000	<0,001	4	-0,400	0,600
D p, p´ DDT	8	0,119	0,779	5	0,500	0,391	6	0,429	0,397
D p, p´ DDE	13	0,137	0,655	8	0,738	0,037	12	0,413	0,183
D Σ DDT	13	0,181	0,553	8	0,429	0,289	12	0,490	0,106
D HCB	9	-0,383	0,308	7	0,536	0,215	9	-0,067	0,865
D Lindano	6	0,029	0,957	4	0,800	0,200	5	0,600	0,285
D Aldrin	10	0,709	0,022	6	-0,543	0,266	8	0,524	0,183
D Endrin	5	0,200	0,747	5	1,000	<0,001	3	1,000	<0,001
D Dieldrin	8	0,595	0,120	5	0,000	1,000	10	0,903	<0,001
D E-I	10	0,127	0,726	8	0,071	0,867	8	0,238	0,570
D Σ Endosulfan	13	-0,060	0,845	8	0,238	0,570	12	0,399	0,199

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

En relación al grupo de los endosulfanes se puede observar que, cuanto mayor es la concentración inicial en suero de endosulfán α mayor es la diferencia entre los niveles de aldrín a los 3 meses y los niveles de aldrín al comienzo del estudio ($p = 0,022$). Y en cuanto a la Σ de endosulfán, a mayor concentración inicial en suero de la Σ de endosulfán mayor es la diferencia entre los niveles de p, p´DDE, Σ DDT, endosulfán α y Σ de endosulfán a los 3 meses y los niveles al inicio del estudio ($p = 0,011$, $p = 0,071$, $p = 0,016$ y $p = 0,001$). Comentar que estas asociaciones son estadísticamente significativas, salvo para la diferencia de los niveles de Σ DDT, en la que existen indicios de significación.

	Ei i			Σ Endosulfan i		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,000	1,000	4	-0,800	0,200
D p, p' DDT	6	0,486	0,329	9	0,250	0,516
D p, p' DDE	11	0,327	0,326	15	0,636	0,011
D Σ DDT	11	0,355	0,285	15	0,479	0,071
D HCB	9	0,250	0,516	10	0,200	0,580
D Lindano	6	0,257	0,623	6	0,143	0,787
D Aldrin	10	0,709	0,022	10	0,200	0,580
D Endrin	5	0,300	0,624	5	0,700	0,188
D Dieldrin	7	0,143	0,760	10	0,442	0,200
D E-I	10	0,127	0,726	10	0,733	0,016
D Σ Endosulfan	11	0,291	0,385	15	0,746	0,001

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el estudio de la asociación entre las distintas variables y la diferencia de los niveles de pesticidas organoclorados a los 3 meses y los niveles al inicio del seguimiento (D).

4.4.3.1.b. Asociación entre la diferencia de niveles residuos en sangre y la edad

Como se observa en la siguiente tabla existe una asociación positiva entre la diferencia de niveles de p, p' DDT en suero expresados en ng/ml y la edad ($p=0,099$). De manera, que cuanto mayor es la edad de las participantes mayor es la diferencia entre los niveles de p, p' DDT a los 3 meses y los niveles de p, p' DDT al inicio del estudio.

	Edad		
	n	r	P
D o, p' DDT	4	0,632	0,368
D p, p' DDT	9	0,583	0,099
D p, p' DDE	15	0,185	0,508
D Σ DDT	15	0,286	0,301
D HCB	10	0,067	0,854
D Lindano	6	-0,086	0,872
D Aldrin	9	-3,335	0,379
D Endrin	5	-0,500	0,391
D Dieldrin	10	0,224	0,533
D E-I	10	-0,110	0,763
D Σ Endosulfan	15	-0,184	0,511

*ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

Por otra parte, cuando el estudio se efectúa para pesticidas ajustados por el contenido lipídico, no se aprecia asociación entre la diferencia en los niveles de pesticidas en suero y la edad.

	Edad		
	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,800	0,200
D p, p' DDT	9	0,483	0,187
D p, p' DDE	15	0,240	0,390
D Σ DDT	15	0,356	0,193
D HCB	10	0,104	0,776
D Lindano	6	0,257	0,623
D Aldrin	10	-0,177	0,625
D Endrin	5	0,400	0,505
D Dieldrin	10	0,358	0,310
D E-I	10	0,000	1,000
D Σ Endosulfan	15	-0,111	0,694

* ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

4.4.3.1.c Asociación entre la diferencia de niveles de pesticidas en sangre y las variables de interés obstétrico

No se ha podido estudiar la asociación entre las diferencias de valores de los pesticidas ya sea por ml de suero o ajustado por contenido lipídico, y el número de embarazos, ya que no se disponía de este dato para las pacientes no embarazadas.

Por el contrario, la tabla siguiente muestra que cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos, mayor es la diferencia de niveles en suero expresado en ng/ml de p, p´DDE. Para esta asociación existe una alta significación estadística ($p=0,007$). Además, cuanto mayor es el número de hijos también es mayor la diferencia de niveles en suero de hexaclorobenceno, lindano y endrín ($p=0,099$, $p=0,123$ y $p=0,054$, respectivamente). Por otro lado, cuanto mayor es el número de meses que las mujeres mantienen la lactancia, mayores son las diferencias de los niveles de p, p´DDE y endrín. Para esta última asociación existe alta significación estadística ($p=0,034$ y $p<0,001$, respectivamente).

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	P
D o, p´ DDT	4	0,000	1,000	3	-0,500	0,667
D p, p´ DDT	9	0,367	0,331	8	0,407	0,317
D p, p´ DDE	15	0,667	0,007	14	0,569	0,034
D Σ DDT	15	-0,036	0,898	14	0,135	0,646
D HCB	10	0,551	0,099	9	0,336	0,376
D Lindano	6	0,698	0,123	5	0,600	0,285
D Aldrin	9	0,177	0,648	8	0,275	0,509
D Endrin	5	0,872	0,054	4	1,000	<0,001
D Dieldrin	10	0,229	0,524	9	0,203	0,601
D E-I	10	0,127	0,726	9	0,283	0,460
D Σ Endosulfan	15	0,095	0,736	14	0,073	0,805

ng/ml; Coeficientes de correlación de Spearman

Cuando los valores de pesticidas se ajustan por el contenido lipídico, cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos, mayor es la diferencia en los niveles de p, p´DDE en suero expresado en ng/g de lípido a los 3 meses y los niveles de p, p´DDE ($p=0,010$). También existen indicios de significación estadística en la asociación positiva entre la diferencia en los niveles de

hexaclorobenceno y el número de hijos nacidos vivos ($p=0,103$), es decir, cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos mayor es esa diferencia. En cuanto a la lactancia materna, cuantos más meses de lactancia mayor es la diferencia de los niveles de p, p' DDE a los 3 meses y los niveles al inicio del estudio.

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	-0,105	0,895	3	-0,500	0,667
D p, p' DDT	9	0,210	0,588	8	0,252	0,548
D p, p' DDE	15	0,643	0,010	14	0,488	0,077
D Σ DDT	15	0,027	0,925	14	0,018	0,952
D HCB	10	0,545	0,103	9	0,244	0,527
D Lindano	6	0,516	0,295	5	0,100	0,873
D Aldrin	10	0,291	0,415	9	-0,176	0,651
D Endrin	5	0,410	0,493	4	0,800	0,200
D Dieldrin	10	0,374	0,287	9	0,405	0,279
D E-I	10	0,006	0,986	9	0,067	0,865
D Σ Endosulfan	15	0,055	0,845	14	-0,013	0,964

*ng/g de lípido; Coeficientes de correlación de Spearman

4.4.3.1.d. Asociación entre la diferencia de los niveles de pesticidas en suero y el IMC

Como se muestra en la tabla siguiente, cuanto mayor es el índice de masa corporal al inicio del estudio, mayor es la diferencia de los niveles de aldrín a los 3 meses y los niveles de aldrín inicialmente ($p=0,036$). También existen indicios de significación estadística para la asociación negativa entre la diferencia de los niveles de dieldrín y el IMC al inicio del seguimiento, de manera que cuanto mayor es éste menor es la diferencia de niveles de dieldrín ($p=0,054$). La misma asociación y en el mismo sentido la encontramos respecto al IMC medido a los 3 meses. Cuanto mayor es éste, mayor es la diferencia en los niveles de aldrín y menor la diferencia en los niveles de dieldrín ($p=0,009$ y $p=0,019$, respectivamente).

	IMC intervención			IMC 3 meses		
	n	r	p	n	r	P
D o, p' DDT	4	-0,316	0,684	4	-0,316	0,684
D p, p' DDT	9	0,317	0,406	9	0,075	0,847
D p, p' DDE	15	0,243	0,383	15	0,367	0,179
D Σ DDT	15	0,318	0,248	15	0,084	0,766
D HCB	10	0,285	0,425	10	0,430	0,214
D Lindano	6	-0,143	0,787	6	-0,257	0,623
D Aldrin	9	0,700	0,036	9	0,583	0,099
D Endrin	5	0,100	0,873	5	0,100	0,873
D Dieldrin	10	-0,624	0,054	10	-0,721	0,019
D E-I	10	-0,091	0,803	10	-0,139	0,701
D Σ Endosulfan	15	-0,021	0,940	15	-0,007	0,980

ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

Cuando las diferencias se estiman para los valores corregidos por el contenido lipídico, no se ha encontrado asociación estadísticamente significativa entre el IMC al inicio del seguimiento y las diferencias en los niveles de pesticidas. Sin embargo, hemos de destacar, que cuanto mayor es el IMC medido en las participantes a los 3 meses, menor es la diferencia en los niveles de lindano y dieldrín en suero expresados en ng/g lípido a los 3 meses y los niveles de lindano y dieldrín al comienzo del estudio (p=0,072 y p=0,074, respectivamente).

	IMC intervención			IMC 3 meses		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	-0,400	0,600	4	-0,400	0,600
D p, p' DDT	9	0,300	0,433	9	0,059	0,881
D p, p' DDE	15	0,186	0,508	15	0,288	0,298
D Σ DDT	15	0,279	0,315	15	0,075	0,790
D HCB	10	0,188	0,603	10	0,248	0,489
D Lindano	6	-0,486	0,329	6	-0,771	0,072
D Aldrin	10	0,273	0,446	10	0,067	0,855
D Endrin	5	0,100	0,873	5	0,100	0,873
D Dieldrin	10	-0,467	0,174	10	-0,588	0,074
D E-I	10	-0,152	0,676	10	-0,176	0,627
D Σ Endosulfan	15	-0,061	0,830	15	-0,027	0,924

*ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

4.4.3.1.e. Asociación entre las diferencias de los niveles de pesticidas en suero y las variables de formación y ocupación

Como se muestra en la tabla siguiente, cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad, mayor es la diferencia de los niveles de dieldrín en suero a los 3 meses y los niveles de dieldrín al comienzo del estudio. Sin embargo hay que decir que para esta asociación positiva sólo existen indicios de significación estadística ($p=0,085$). Así mismo, se encuentran indicios de significación para la asociación negativa entre el nivel educativo y la diferencia en los niveles de p, p' DDT y Σ DDT. Es decir, cuanto mayor es el nivel de escolaridad menor es la diferencia de los niveles de p, p' DDT y Σ DDT en suero a los 3 meses y los niveles de estos pesticidas al inicio ($p=0,150$ y $p=0,074$, respectivamente).

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,333	0,667	4	-0,833	0,167
D p, p' DDT	9	0,411	0,272	9	-0,522	0,150
D p, p' DDE	15	-0,141	0,617	15	0,270	0,331
D Σ DDT	15	0,306	0,267	15	-0,474	0,074
D HCB	10	-0,295	0,408	10	0,150	0,680
D Lindano	6	0,278	0,594	6	0,088	0,868
D Aldrin	9	-0,391	0,298	9	0,395	0,292
D Endrin	5	0,564	0,322	5	-0,103	0,870
D Dieldrin	10	0,571	0,085	10	0,014	0,914
D E-I	10	0,195	0,590	10	0,162	0,654
D Σ Endosulfan	15	0,133	0,636	15	0,042	0,883

ng/ml; Coeficientes de correlación de Spearman

Según se muestra en la tabla siguiente, existe una asociación positiva, estadísticamente significativa, entre la ruralidad y la diferencia en los niveles de lindano ($p=0,008$). Es decir, cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad, mayor es la diferencia en los niveles de lindano en suero, ajustados por el contenido lipídico, a los 3 meses y los niveles al comienzo del seguimiento. La misma asociación y en el mismo sentido es encontrada para la ruralidad y la diferencia en los niveles de Σ DDT y dieldrín, pero en esta ocasión sólo contamos con indicios de significación estadística ($p=0,132$ y $p=0,089$, respectivamente).

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,316	0,684	4	-0,949	0,051
D p, p' DDT	9	0,498	0,172	9	-0,641	0,063
D p, p' DDE	15	-0,042	0,882	15	0,140	0,618
D Σ DDT	15	0,407	0,132	15	-0,630	0,012
D HCB	10	-0,059	0,871	10	-0,254	0,479
D Lindano	6	0,926	0,008	6	-0,618	0,191
D Aldrin	10	-0,007	0,985	10	0,195	0,589
D Endrin	5	0,564	0,322	5	-0,410	0,493
D Dieldrin	10	0,564	0,089	10	-0,117	0,749
D E-I	10	0,266	0,458	10	0,000	1,000
D Σ Endosulfan	15	0,137	0,627	15	-0,015	0,957

* ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

A continuación se muestran los resultados de la asociación entre las diferencias de los niveles de pesticidas en suero y el hecho de haber realizado o no labores agrícolas.

Dif. Pesticidas/ Agricultura	SI			NO			p _{K-W}	p ANOVA
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	0,04	0,07	1	-0,13	----	0,157	0,027
D p, p' DDT	5	0,17	1,02	4	-0,52	0,47	0,221	0,820
D p, p' DDE	6	-0,01	1,10	9	0,03	0,52	0,479	0,272
D Σ DDT	6	0,23	1,17	9	-0,02	0,97	0,724	0,510
D HCB	4	-0,23	0,84	6	0,26	0,48	0,522	0,236
D Lindano	3	0,26	0,36	3	0,03	0,07	0,513	0,287
D Aldrín	4	-0,28	0,17	5	0,12	0,29	0,050	0,080
D Endrín	3	1,98	3,77	2	0,13	0,19	0,564	0,784
D Diadrín	5	-0,13	0,92	5	0,21	0,65	0,754	0,874
D E-I	4	-0,00	0,54	6	0,04	0,21	0,394	0,291
D Σ endosulfan	6	-2,09	5,14	9	2,05	6,49	0,637	0,180

*ng/ml; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Se ha encontrado significación estadística para la asociación entre la participación en tareas agrícolas y la variación de los niveles de o, p' DDT y aldrín (expresados en ng/ml) y medidos en suero a los tres meses de la intervención quirúrgica y en el momento del tratamiento. De esta manera, las pacientes que declararon haber participado en tareas agrícolas tuvieron una fluctuación de los valores de 0,28 unidades de disminución media, frente a las que no tienen actividad agrícola, en las que la media de aldrín circulante se incrementó en 0,12 unidades.

Dif. Pesticidas/ Agricultura	SI			NO			p _{K-W}	p _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	26,31	11,55	1	-13,46	----	0,180	0,001
D p, p' DDT	5	89,19	214,89	4	-93,59	94,96	0,086	0,264
D p, p' DDE	6	79,33	284,12	9	14,22	93,83	0,724	0,293
D Σ DDT	6	203,42	311,10	9	10,88	186,21	0,157	0,302
D HCB	4	23,25	167,26	6	47,41	94,21	0,670	0,286
D Lindano	3	88,70	94,94	3	6,21	9,53	0,050	0,158
D Aldrín	4	-12,49	26,31	6	53,63	79,95	0,248	0,979
D Endrín	3	590,15	939,78	2	14,94	27,12	0,248	0,214
D Dieldrín	5	25,35	179,70	5	47,09	112,98	0,754	0,385
D E-I	4	46,31	133,18	6	8,55	42,34	0,831	0,561
D Σ endosulfan	6	-315,22	1282,03	9	405,65	1157,63	0,724	0,219

*ng/g de lípido; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como puede observarse en la tabla, las pacientes que refieren haber trabajado en la agricultura presentan un mayor incremento medio de pesticidas circulantes después de tres meses de seguimiento que aquellas que no han trabajado en la agricultura, tanto en el caso de o, p' DDT como de lindano. Sin embargo, las diferencias observadas para aldrín no se mantienen.

Dif. Pesticidas/ Uso insecticidas	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	1	0,00	----	3	-0,00	0,12	1,000	0,784
D p, p' DDT	1	0,00	----	8	-0,15	0,92	0,439	0,660
D p, p' DDE	1	0,04	----	14	0,02	0,80	0,354	0,777
D Σ DDT	1	0,04	----	14	0,08	1,07	0,817	0,703
D HCB	1	-0,09	----	9	0,08	0,69	0,384	0,841
D Lindano	1	0,05	----	5	0,17	0,29	0,380	0,996
D Aldrin	1	-0,48	----	8	-0,01	0,29	0,121	0,002
D Endrin	1	-0,28	----	4	1,62	3,14	0,157	0,073
D Dieldrin	1	-0,12	----	9	0,06	0,82	0,862	0,845
D E-I	1	-0,26	----	9	0,06	0,35	0,384	0,679
D Σ Endosulfan	1	0,25	----	14	0,40	6,38	0,643	0,808

*ng/ml; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Dado el bajo número de enfermas que declararon el uso de insecticidas, el análisis estadístico carece de valor.

Dif. Pesticidas/ Uso insecticidas	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	1	21,86	----	3	14,53	26,58	----	----
D p, p' DDT	1	21,87	----	8	6,22	202,06	0,699	0,714
D p, p' DDE	1	124,73	----	14	34,24	192,49	0,355	0,624
D Σ DDT	1	185,74	----	14	80,90	260,84	0,247	0,696
D HCB	1	93,85	----	9	31,52	125,60	0,384	0,732
D Lindano	1	42,94	----	5	48,36	84,25	0,380	0,640
D Aldrin	1	-33,88	----	9	33,96	71,05	0,223	0,563
D Endrin	1	76,47	----	4	430,96	829,38	0,480	0,751
D Dieldrin	1	50,40	----	9	34,64	150,49	0,862	0,765
D E-I	1	-18,97	----	9	23,39	89,15	0,384	0,912
D Σ Endosulfan	1	360,99	----	14	99,89	1263,27	0,487	0,787

*ng/g de lípido; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Dado el bajo número de enfermas que declararon el uso de insecticidas el análisis estadístico carece de valor.

4.4.3.1.f. Asociación entre las diferencias de los niveles de pesticidas en suero y las variables de interés clínico

Se encuentra una asociación positiva entre el estadio tumoral y las diferencias en los niveles de p, p´DDT, p, p´DDE, Σ DDT, dieldrín y Σ endosulfán. De manera que, cuanto más avanzada es la enfermedad neoplásica mamaria, mayor es la diferencia en los niveles de p, p´DDE y Σ endosulfán. Estas asociaciones son estadísticamente significativas (p=0,031 y p=0,014, respectivamente). En el mismo sentido, cuanto mayor es el estadio tumoral mayor es la diferencia de los niveles de p, p´DDT, Σ DDT y dieldrín, pero para esta correlación sólo existen indicios de significación estadística (p=0,127, p=0,061 y p=0,101, respectivamente).

	Estadio tumoral		
	n	r	p
D o, p´ DDT	4	0,000	1,000
D p,p´ DDT	7	0,632	0,127
D p,p´ DDE	11	0,647	0,031
D Σ DDT	11	0,581	0,061
D HCB	6	-0,293	0,573
D Lindano	4	0,447	0,553
D Aldrin	6	-0,621	0,188
D Endrin	4	0,000	1,000
D Dieldrin	8	0,620	0,101
D E-I	8	0,394	0,334
D Σ Endosulfan	11	0,710	0,014

ng/ml; Coeficiente de correlación de Spearman

Cuando se ajustan las diferencias de los niveles de pesticidas en sangre por el contenido lipídico se observa que, cuanto más avanzada está la enfermedad tumoral mayor es la diferencia en los niveles de p, p´DDE, Σ DDT y Σ endosulfán en suero expresados en ng/g de lípido a los 3 meses y los niveles al inicio (p=0,032, p=0,005 y p=0,014, respectivamente). Además, se tienen indicios de significación estadística para la asociación positiva entre el estadio tumoral y la diferencia en los niveles de endrín y dieldrín (p=0,106 y p=0,101, respectivamente).

	Estadio tumoral		
	n	r	p
D o, p' DDT	4	0,000	1,000
D p, p' DDT	7	0,474	0,282
D p, p' DDE	11	0,645	0,032
D Σ DDT	11	0,775	0,005
D HCB	6	0,293	0,573
D Lindano	4	0,894	0,106
D Aldrin	7	0,144	0,758
D Endrin	4	0,894	0,106
D Dieldrin	8	0,620	0,101
D E-I	8	0,394	0,334
D Σ Endosulfan	11	0,710	0,014

*ng/g de lípido; Coeficiente de correlación de Spearman

Las tablas siguientes muestran la asociación existente entre el cambio detectado en los niveles circulantes de pesticidas, expresados en ng/ml y ng/g de grasa, y el empleo de radioterapia en el tratamiento de las pacientes.

Dif. Pesticidas/ Radioterapia	SI			NO			D _{K-W}	D _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	-0,00	0,12	1	0,00	----	1,000	0,784
D p, p' DDT	7	-0,50	0,51	2	1,15	0,32	0,040	0,200
D p, p' DDE	13	-0,10	0,55	2	0,81	1,80	0,865	0,522
D Σ DDT	13	-0,14	0,85	2	1,48	1,21	0,062	0,170
D HCB	9	0,01	0,68	1	0,50	----	0,223	0,689
D Lindano	5	0,04	0,05	1	0,67	----	0,143	0,153
D Aldrín	7	-0,04	0,36	2	-0,14	0,02	0,770	0,752
D Endrín	4	-0,03	0,23	1	6,33	----	0,157	0,180
D Dieldrín	9	-0,03	0,78	1	0,73	----	0,223	0,642
D E-I	9	-0,06	0,23	1	0,78	----	0,117	0,259
D Σ endosulfan	13	0,99	5,73	2	-3,50	10,12	0,865	0,010

*ng/ml; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Dif. Pesticidas/ Radioterapia	SI			NO			D _{K-W}	D _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	15,94	26,94	1	17,64	----	0,665	0,700
D p, p' DDT	7	-74,41	101,39	2	296,27	----	0,040	0,370
D p, p' DDE	13	7,47	98,10	2	253,48	518,58	0,865	0,708
D Σ DDT	13	29,14	172,41	2	469,78	448,88	0,126	0,433
D HCB	9	25,74	120,79	1	145,86	----	0,223	0,699
D Lindano	5	17,37	17,83	1	197,86	----	0,143	0,356
D Aldrín	8	34,78	76,33	2	-3,22	37,95	0,602	0,833
D Endrín	4	31,38	33,95	1	1674,82	----	0,157	0,296
D Dieldrín	9	17,96	137,16	1	202,98	----	0,223	0,681
D E-I	9	-0,82	38,19	1	243,96	----	0,117	0,407
D Σ endosulfan	13	248,42	1011,99	2	-734,95	2616,14	0,865	0,007

*ng/g de lípido; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como puede observarse en las tablas, aquellas pacientes que fueron sometidas a radioterapia presentan una variación media en los valores de DDT y Σ DDT menor y significativamente diferente de aquellas que no fueron tratadas con radiación.

Las dos tablas siguientes muestran la asociación existente entre el cambio detectado en los niveles circulantes de pesticidas, expresados en ng/ml y ng/g de grasa, y el empleo de quimioterapia preoperatoria en el tratamiento de las pacientes.

Dif. Pesticidas/ Quimioterapia Preoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	0	----	----	4	-0,00	0,10	----	----
D p, p' DDT	1	-1,24	----	8	0,00	0,80	0,248	0,010
D p, p' DDE	3	-0,30	0,16	12	0,10	0,84	0,248	0,932
D Σ DDT	3	0,35	1,52	12	0,01	0,94	1,000	0,746
D HCB	2	-0,93	0,72	8	0,31	0,36	0,037	0,016
D Lindano	0	----	----	6	0,15	0,26	----	----
D Aldrín	0	----	----	9	-0,06	0,32	----	----
D Endrín	0	----	----	5	1,24	2,85	----	----
D Dieldrín	3	0,54	0,68	7	-0,17	0,75	0,138	0,431
D E-I	1	0,13	----	9	0,01	0,37	0,384	0,621
D Σ endosulfan	3	6,59	10,68	12	-1,15	3,80	0,112	0,429

*ng/ml; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Dif. Pesticidas/ Quimioterapia Preoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	0	----	----	4	16,37	22,01	----	----
D p, p' DDT	1	-193,06	----	8	33,09	185,37	0,245	0,842
D p, p' DDE	3	-46,70	23,04	12	62,01	204,47	0,386	0,887
D Σ DDT	3	81,10	260,54	12	89,59	262,65	0,885	0,700
D HCB	2	-149,84	104,53	8	84,65	66,33	0,037	0,020
D Lindano	0	----	----	6	47,45	75,39	----	----
D Aldrín	1	197,63	----	9	8,24	39,14	0,117	0,808
D Endrín	0	----	----	5	360,07	735,55	----	----
D Dieldrín	3	99,98	123,88	7	8,89	149,05	0,210	0,513
D E-I	1	23,49	----	9	23,67	90,55	0,384	0,713
D Σ endosulfan	3	1179,88	1918,86	12	-148,34	915,11	0,149	0,544

*ng/g de lípido; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como puede observarse en las tablas, el valor medio de la variación del residuo de HCB es mayor y con clara tendencia a la disminución en el caso de

las pacientes tratadas con quimioterapia que en el caso de las que no fueron tratadas preoperatoriamente con drogas antineoplásicas.

Se muestra en las siguientes tablas, la asociación existente entre el cambio detectado en los niveles circulantes de pesticidas, expresados en ng/ml y ng/g de grasa, y el tratamiento quimioterápico postoperatorio de las pacientes.

Dif. Pesticidas/ Quimioterapia Postoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	4	-0,00	0,10	0	----	----	----	----
D p, p' DDT	8	-0,27	0,82	1	0,92	----	0,165	0,448
D p, p' DDE	14	0,05	0,78	1	-0,46	----	0,165	0,928
D Σ DDT	14	0,04	1,05	1	0,63	----	0,355	0,501
D HCB	10	0,06	0,66	0	----	----	----	----
D Lindano	6	0,15	0,26	0	----	----	----	----
D Aldrín	8	-0,05	0,34	1	-0,12	----	1,000	0,808
D Endrín	5	1,24	2,85	0	----	----	----	----
D Dieldrín	10	0,04	0,77	0	----	----	----	----
D E-I	10	0,03	0,35	0	----	----	----	----
D Σ endosulfan	14	1,18	5,55	1	-10,66	----	0,105	<0,001

*ng/ml; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Dif. Pesticidas/ Quimioterapia Postoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	4	16,37	22,01	0	----	----	----	----
D p, p' DDT	8	-18,99	182,73	1	223,51	----	0,245	0,589
D p, p' DDE	14	51,23	188,94	1	-113,21	----	0,165	0,696
D Σ DDT	14	83,29	261,70	1	152,37	----	0,643	0,717
D HCB	10	37,75	120,05	0	----	----	----	----
D Lindano	6	47,45	75,39	0	----	----	----	----
D Aldrín	9	33,54	71,49	1	-30,06	----	0,384	----
D Endrín	5	360,07	735,55	0	----	----	----	----
D Dieldrín	10	36,22	141,97	0	----	----	----	----
D E-I	10	23,65	85,37	0	----	----	----	----
D Σ endosulfan	14	310,31	999,49	1	-2584,85	----	0,105	<0,001

*ng/g de lípido; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

De nuevo, el análisis se ve dificultado por el bajo número de pacientes incluidas en una de las opciones de clasificación.

Las tablas siguientes que aparecen a continuación, muestran la asociación existente entre el cambio detectado en los niveles circulantes de pesticidas, expresados en ng/ml y ng/g de grasa, y el tipo de cirugía a la que han sido sometidas las pacientes. Como se puede apreciar la opción terapéutica, tumorectomía más linfadenectomía axilar, no aparece reflejada en las tablas por ser n=0.

Dif. Pesticidas/ Cirugía	Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	-0,00	0,12	1	0,00	----	1,000	0,784
D p, p' DDT	6	-0,38	0,43	3	0,35	1,40	0,438	0,767
D p, p' DDE	8	-0,15	0,57	7	0,22	0,95	0,908	0,344
D Σ DDT	8	-0,27	0,63	7	0,48	1,28	0,298	0,232
D HCB	6	0,16	0,21	4	-0,09	1,08	1,000	0,266
D Lindano	5	0,04	0,05	1	0,68	----	0,143	0,153
D Aldrin	5	-0,03	0,38	4	-0,11	0,26	0,624	0,777
D Endrin	4	-0,03	0,23	1	6,34		0,157	0,180
D Dieldrin	4	-0,54	0,75	6	0,43	0,54	0,033	0,153
D E-I	6	-0,15	0,18	4	0,29	0,38	0,055	0,112
D Σ Endosulfan	8	-1,03	2,18	7	2,02	8,79	0,132	0,503

* (ng/ml); VA: Vaciamiento axilar; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Dif. Pesticidas/ Cirugía	Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	15,94	26,94	1	17,64	----	0,655	0,700
D p, p' DDT	6	-54,64	95,14	3	133,16	291,73	0,302	0,520
D p, p' DDE	8	-1,37	99,19	7	87,86	255,18	0,643	0,392
D Σ DDT	8	2,62	171,39	7	185,34	306,73	0,298	0,256
D HCB	6	55,25	41,49	4	11,49	197,06	1,000	0,249
D Lindano	5	17,37	17,83	1	197,86	----	0,143	0,356
D Aldrin	5	7,08	44,86	5	47,27	90,06	0,465	0,441
D Endrin	4	31,38	33,95	1	1674,82	----	0,157	0,296
D Dieldrin	4	-64,83	136,94	6	103,60	106,83	0,033	0,198
D E-I	6	-18,26	26,50	4	86,53	109,13	0,019	0,201
D Σ Endosulfan	8	-97,67	419,10	7	362,99	1769,56	0,132	0,386

* (ng/g de lípido); VA: Vaciamiento axilar; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como se puede observar en las tablas, la variación media de los niveles de dieldrín y de endosulfán α fue negativa, es decir, indicando una liberación del depósito, en aquellas pacientes que fueron sometidas a cuadrantectomía y VA significativamente mayor que en aquellas que fueron tratadas mediante la técnica de Madden.

4.4.3.2. Asociación entre la diferencia de los niveles de pesticidas organoclorados en tejido adiposo abdominal (3 meses de seguimiento) y niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario (inicio del estudio) y las distintas variables

En primer lugar se analizan los resultados obtenidos en la correlación entre los niveles de pesticidas medidos en tejido adiposo mamario, es decir, al inicio del estudio y la diferencia de los niveles de pesticidas entre el tejido adiposo abdominal y los niveles de estos pesticidas en tejido adiposo mamario.

4.4.3.2.a Asociación entre la diferencia de los niveles de pesticidas (3 meses e intervención) y los niveles pesticidas en la intervención medidos en tejido adiposo

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de la asociación entre las variaciones experimentadas por los valores medios de los diferentes pesticidas y la concentración de cada uno de ellos en tejido mamario, obtenido en el momento de la cirugía mamaria (i).

	o, p' DDT i			p, p' DDT i			p, p' DDE i		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	31	0,407	0,023	30	0,193	0,307	31	0,234	0,205
D p, p' DDT	31	0,145	0,437	32	0,411	0,020	32	0,073	0,690
D p, p' DDE	34	0,513	0,002	34	0,446	0,008	35	0,446	0,007
D Σ DDT	34	0,358	0,037	34	0,302	0,082	35	0,327	0,055
D HCB	34	0,235	0,182	34	-0,135	0,448	35	0,309	0,071
D Lindano	34	0,216	0,220	34	0,182	0,302	35	0,167	0,337
D Aldrin	33	0,041	0,822	32	0,352	0,048	33	0,205	0,252
D Endrin	34	0,067	0,706	34	-0,041	0,816	35	0,088	0,615
D Dieldrin	30	0,236	0,210	30	0,144	0,449	31	0,459	0,009
D E-I	33	0,509	0,002	33	0,050	0,784	34	0,257	0,143
D Σ Endosulfan	34	0,306	0,078	34	-0,004	0,981	35	0,263	0,127

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Cuanto mayor es la concentración de o, p´DDT en tejido graso mamario, mayor es la diferencia entre los niveles de o, p´DDT, p, p´DDE, Σ DDT, endosulfán α y Σ endosulfán en grasa abdominal y los niveles en grasa mamaria ($p=0,023$, $p=0,002$, $p=0,037$, $p=0,002$ y $p=0,078$). Como se puede observar, todas las asociaciones son estadísticamente significativas salvo para las diferencias en los niveles de la Σ endosulfán, donde existen indicios de significación estadística.

Por otra parte, conforme aumenta la concentración de p, p´DDT en tejido graso mamario, también aumentan las diferencias entre los niveles de p, p´DDT, p, p´DDE, Σ DDT y aldrín en tejido adiposo abdominal y los niveles en tejido graso mamario ($p=0,020$, $p=0,008$, $p=0,082$ y $p=0,048$). Las asociaciones positivas son estadísticamente positivas salvo para Σ DDT, en donde sólo contamos con indicios de significación.

Por último, al aumentar los niveles de p, p´DDE en grasa mamaria también aumentan las diferencias entre los niveles de p, p´DDE, Σ DDT, HCB, dieldrín, endosulfán α y Σ endosulfán en grasa abdominal y los niveles en grasa mamaria. Las asociaciones son estadísticamente significativas para D p, p´DDE ($p=0,007$) y para D dieldrín ($p=0,009$). Para el resto las asociaciones se cuenta con indicios de significación ($p=0,055$, $p=0,071$, $p=0,143$ y $p=0,127$).

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de la asociación entre las variaciones experimentadas por los valores medios de los diferentes pesticidas y la concentración de Σ DDT al inicio de estudio (i).

	Σ DDT i		
	n	r	p
D o, p´ DDT	31	0,236	0,201
D p, p´ DDT	32	0,100	0,587
D p, p´ DDE	35	0,482	0,003
D Σ DDT	35	0,512	0,002
D HCB	35	0,301	0,079
D Lindano	35	0,219	0,206
D Aldrin	33	0,289	0,103
D Endrin	35	0,208	0,230
D Dieldrin	31	0,377	0,037
D E-I	34	0,247	0,159
D Σ Endosulfan	35	0,173	0,322

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

También se puede afirmar que cuanto mayor es el nivel en grasa mamaria de la Σ DDT, también es mayor la diferencia entre los niveles de p, p´DDE, Σ DDT, hexaclorobenceno, aldrín y dieldrín en tejido adiposo abdominal y los niveles en tejido adiposo mamario. Todas las asociaciones son estadísticamente significativas ($p=0,003$, $p=0,002$ y $p=0,037$), salvo para D HCB y D aldrín, en la que sólo encontramos indicios de significación estadística ($p=0,079$ y $p=0,103$).

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de la asociación entre las variaciones experimentadas por los valores medios de los diferentes pesticidas y las concentraciones de HCB y lindano al inicio (i).

	HCB i			Lindano i		
	n	r	p	n	r	p
D o, p´ DDT	31	0,060	0,747	31	0,208	0,261
D p, p´ DDT	32	-0,220	0,225	32	0,251	0,166
D p, p´ DDE	35	0,208	0,231	35	0,083	0,636
D Σ DDT	35	-0,054	0,760	35	-0,102	0,559
D HCB	35	0,349	0,040	35	-0,055	0,753
D Lindano	35	0,187	0,283	35	0,416	0,013
D Aldrin	33	0,322	0,068	33	-0,174	0,331
D Endrin	35	0,165	0,344	35	0,003	0,987
D Dieldrin	31	0,540	0,002	31	-0,008	0,967
D E-I	34	0,028	0,875	34	0,147	0,407
D Σ Endosulfan	35	0,372	0,028	35	0,081	0,643

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Existe una asociación positiva entre los niveles iniciales de HCB en tejido graso mamario y las diferencias entre los niveles en tejido adiposo abdominal de HCB, aldrín, dieldrín y Σ endosulfán y los niveles en tejido adiposo mamario. De manera que, cuanto mayor es la concentración en grasa mamaria de HCB, mayores son las diferencias de estos pesticidas ($p=0,040$, $p=0,068$, $p=0,002$ y $p=0,028$). Como se puede apreciar, salvo para la D aldrín, en que existen indicios de significación estadística, para los demás resultados, las asociaciones son estadísticamente significativas.

La misma asociación y en el mismo sentido existe entre la concentración de lindano en grasa mamaria y la diferencia entre los niveles de lindano en grasa abdominal y los niveles de lindano en grasa mamaria ($p=0,013$).

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de la asociación entre las variaciones experimentadas por los valores medios de los diferentes pesticidas y las concentraciones de aldrín, endrín y dieldrín al inicio (i).

	Aldrin i			Endrin i			Dieldrin i		
	n	r	p	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	31	-0,147	0,430	31	0,015	0,936	29	0,148	0,443
D p, p' DDT	32	0,088	0,632	32	-0,025	0,894	30	-0,089	0,640
D p, p' DDE	35	0,062	0,722	35	0,064	0,713	33	0,313	0,076
D Σ DDT	35	-0,097	0,579	35	0,140	0,423	33	0,157	0,383
D HCB	35	-0,327	0,055	35	-0,012	0,947	33	0,066	0,714
D Lindano	35	-0,039	0,822	35	-0,032	0,855	33	0,012	0,948
D Aldrin	33	0,358	0,041	33	0,046	0,798	31	0,013	0,933
D Endrin	35	0,112	0,524	35	0,607	0,001	33	0,268	0,131
D Dieldrin	31	0,129	0,489	31	0,358	0,048	31	0,520	0,003
D E-I	34	0,002	0,990	34	0,181	0,306	32	0,085	0,644
D Σ Endosulfan	35	0,391	0,020	35	0,462	0,005	33	0,319	0,070

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Cuando se analizan los resultados de aldrín, endrín y dieldrín se encuentra que respecto a aldrín, cuanto mayor es la concentración de éste en grasa mamaria, menor es la diferencia entre los niveles de HCB y mayor la de aldrín en grasa abdominal y los niveles en grasa mamaria ($p=0,055$ y $p=0,041$, respectivamente). En cuanto a endrín, conforme aumenta la concentración de este residuo en tejido adiposo mamario, también aumenta la diferencia entre los niveles de endrín, dieldrín y Σ endosulfán en grasa abdominal y los niveles en grasa mamaria ($p<0,001$, $p=0,048$ y $p=0,005$, respectivamente). Por último, si aumentan los niveles en tejido adiposo mamario de dieldrín, también aumentan las diferencias entre los niveles de p, p' DDE, endrín, dieldrín y Σ endosulfán medidos en grasa abdominal y los niveles medidos en grasa mamaria. Esta asociación positiva es estadísticamente significativa para D dieldrín ($p=0,003$). Para las otras asociaciones existen indicios de significación estadística ($p=0,076$, $p=0,131$, $p=0,070$, respectivamente).

En la tabla siguiente se muestran los resultados del estudio de la asociación entre las variaciones experimentadas por los valores medios de los diferentes pesticidas y las concentraciones de endosulfán α y Σ endosulfán al inicio del estudio (i).

	E-I i			Σ Endosulfan i		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	31	0,362	0,045	31	0,190	0,307
D p, p' DDT	32	0,253	0,162	32	0,168	0,357
D p, p' DDE	35	0,358	0,035	35	0,302	0,078
D Σ DDT	35	0,347	0,041	35	0,235	0,175
D HCB	35	-0,069	0,695	35	-0,045	0,799
D Lindano	35	0,031	0,860	35	-0,113	0,516
D Aldrin	33	0,028	0,878	33	0,197	0,271
D Endrin	35	0,082	0,638	35	0,397	0,018
D Dieldrin	31	-0,096	0,609	31	0,271	0,141
D E-I	34	0,613	0,001	34	0,378	0,028
D Σ Endosulfan	35	0,188	0,279	35	0,617	0,001

ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Cuando aumentan los niveles de endosulfán α en grasa mamaria aumentan también las diferencias entre la concentración de o, p' DDT, p, p' DDE, Σ DDT y endosulfán α en tejido graso abdominal y las concentraciones en tejido graso mamario (p=0,045, p=0,035, p=0,041 y p<0,001, respectivamente). Así mismo, cuanto mayor es la concentración de la Σ endosulfán en grasa mamaria mayor es la diferencia entre la concentración de p, p' DDE, endrín, dieldrín, endosulfán α y Σ endosulfán en grasa abdominal y la concentración de estos pesticidas en grasa mamaria (p=0,078, p=0,018, p=0,141, p=0,028 y p<0,001, respectivamente). Son estadísticamente significativas las asociaciones para D endrín, D endosulfán α y D Σ endosulfán.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el estudio de la asociación entre las distintas variables y la diferencia de los niveles de pesticidas organoclorados a los 3 meses y los niveles al inicio del seguimiento (D) medidos en tejido adiposo.

4.4.3.2.b. Asociación entre la diferencia de niveles de pesticidas en tejido adiposo y la edad

Como se señala en la tabla siguiente se ha encontrado una asociación significativa entre la edad de las pacientes y la diferencia entre la concentración de aldrín en el tejido graso abdominal y la concentración de éste en tejido graso mamario. De manera que, cuanto mayor es la edad de las participantes, mayor es la diferencia de esas concentraciones ($p < 0,001$). También se encuentra una asociación positiva entre la edad y la diferencia en los niveles de p, p´DDE y Σ endosulfán en grasa abdominal y los niveles en grasa mamaria, aunque para esta asociación existen indicios de significación estadística ($p = 0,145$ y $p = 0,105$, respectivamente).

	Edad		
	n	r	p
D o, p´ DDT	31	-0,045	0,811
D p, p´ DDT	31	0,007	0,970
D p, p´ DDE	35	0,251	0,145
D Σ DDT	35	0,018	0,920
D HCB	35	0,127	0,468
D Lindano	35	0,163	0,349
D Aldrin	33	0,594	0,001
D Endrin	35	0,053	0,762
D Dieldrin	31	0,260	0,158
D E-I	34	0,025	0,890
D Σ Endosulfan	35	0,278	0,105

*ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

4.4.3.2.c. Asociación entre la diferencia de niveles de pesticidas en tejido graso y antecedentes obstétricos de las pacientes

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre los antecedentes de embarazo de las pacientes reclutadas y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif. Pesticidas/ Embarazo	SI			NO			D _{K-W}	D _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	26	-0,74	16,86	5	9,08	13,37	0,217	0,565
D p, p' DDT	27	-5,31	48,90	5	9,50	34,07	0,392	0,545
D p, p' DDE	30	53,64	265,86	5	224,42	243,54	0,109	0,435
D Σ DDT	30	99,16	401,73	5	340,74	364,56	0,144	0,381
D HCB	30	-7,85	62,26	5	239,29	471,35	0,059	0,228
D Lindano	30	15,65	112,75	5	7,07	12,86	0,172	0,493
D Aldrín	28	-2,28	11,76	5	0,43	7,14	0,548	0,493
D Endrín	30	-11,59	135,20	5	90,67	153,84	0,043	0,563
D Dieldrín	27	0,473	35,41	4	44,78	63,78	0,016	0,262
D E-I	29	5,77	37,89	5	4,62	13,76	0,827	0,709
D Σ endosulfan	30	0,96	141,75	5	166,75	263,18	0,109	0,373

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como puede deducirse de los datos presentados en la tabla, parece existir una constante en la disminución de los valores medios de todos los pesticidas a los tres meses de observación, con respecto a los valores estimados en la intervención quirúrgica, en aquellas pacientes que refieren uno o más embarazos. Esta caída alcanza la significación estadística para el caso de HCB, endrín y dieldrín.

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre el número de hijos nacidos vivos y el número de meses de lactancia materna de las pacientes reclutadas y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
D o, p´ DDT	31	-0,391	0,030	27	-0,555	0,003
D p, p´ DDT	32	-0,222	0,222	28	-0,278	0,152
D p, p´ DDE	35	-0,172	0,322	31	-0,259	0,159
D Σ DDT	35	-0,171	0,325	31	-0,224	0,227
D HCB	35	-0,186	0,285	31	-0,207	0,264
D Lindano	35	-0,236	0,173	31	-0,188	0,311
D Aldrin	33	-0,045	0,804	29	-0,011	0,954
D Endrin	35	-0,343	0,044	31	-0,229	0,214
D Dieldrin	31	-0,276	0,133	27	-0,243	0,221
D E-I	34	-0,134	0,451	30	-0,185	0,327
D Σ Endosulfan	35	-0,129	0,460	31	-0,204	0,270

*ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Al pasar a analizar la relación existente entre la diferencia en los niveles de pesticidas en tejido adiposo y el número de hijos nacidos vivos y los meses de lactancia materna, se encuentran los siguientes resultados: cuanto mayor es el número de hijos, menor es la diferencia de los niveles de o, p´ DDT y endrín en grasa abdominal y mamaria ($p=0,030$ y $p=0,044$, respectivamente). La misma asociación negativa se encuentra para el dieldrín, pero sólo con indicios de significación estadística ($p=0,133$). Cuantos más meses de lactancia materna, menor es la diferencia en los niveles de o, p´ DDT en grasa abdominal y mamaria ($p=0,003$).

4.4.3.2.d. Asociación entre la diferencia de los niveles de pesticidas en tejido adiposo y el IMC

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre el IMC de las pacientes, medido al inicio del estudio y a los tres meses y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

	IMC intervención			IMC 3 meses		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	31	0,014	0,940	31	0,039	0,836
D p, p' DDT	32	-0,270	0,135	32	-0,225	0,215
D p, p' DDE	35	0,029	0,867	35	0,077	0,659
D Σ DDT	35	-0,033	0,850	35	0,049	0,782
D HCB	35	0,135	0,440	35	-0,012	0,946
D Lindano	35	0,075	0,670	35	0,054	0,757
D Aldrin	33	-0,004	0,982	33	-0,071	0,694
D Endrin	35	0,159	0,361	35	0,247	0,153
D Dieldrin	31	0,288	0,116	31	0,197	0,287
D E-I	34	0,141	0,425	34	0,206	0,242
D Σ Endosulfan	35	0,148	0,396	35	0,211	0,224

* ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

No se ha demostrado asociación entre el índice de masa corporal a los 3 meses y diferencia en los niveles de pesticidas en el tejido graso. Sin embargo, se puede afirmar que, cuanto mayor es el índice de masa corporal de las pacientes medido al inicio del estudio, menor es la diferencia de los niveles de p, p' DDT en tejido graso y mayor la diferencia de los niveles de dieldrín. Todo ello se puede afirmar con cautela, ya que sólo se cuenta indicios de significación estadística (p=0,135 y p=0,116, respectivamente).

4.4.3.2.e. Asociación entre las diferencias de los niveles de pesticidas en tejido adiposo y formación y actividad laboral

En la siguiente tabla se muestran los resultados del estudio de asociación entre el porcentaje de ruralidad y el nivel educativo de las participantes y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
D o, p' DDT	31	-0,173	0,352	31	-0,148	0,426
D p, p' DDT	32	-0,154	0,401	31	0,242	0,182
D p, p' DDE	35	-0,238	0,168	35	0,013	0,940
D Σ DDT	35	-0,204	0,240	35	0,194	0,265
D HCB	35	-0,223	0,198	35	-0,336	0,048
D Lindano	35	0,230	0,184	35	-0,008	0,963
D Aldrin	33	0,243	0,173	33	-0,251	0,158
D Endrin	35	0,087	0,618	35	0,022	0,899
D Dieldrin	31	0,266	0,148	31	-0,367	0,043
D E-I	34	-0,281	0,107	34	-0,129	0,467
D Σ Endosulfan	35	0,189	0,278	35	-0,260	0,132

*ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

Cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad mayor es la diferencia en la concentración de dieldrín en grasa abdominal y mamaria y menor es la diferencia en los niveles de endosulfán α . Para estas asociaciones positiva y negativa, respectivamente, existen indicios de significación estadística ($p=0,148$ y $p=0,107$). Si analizamos la relación existente con respecto al nivel educativo podemos afirmar lo siguiente: conforme aumenta el nivel de escolaridad, existen menores diferencias en los niveles de hexaclorobenceno, dieldrín y Σ endosulfán en el tejido graso. Para las dos primeras asociaciones negativas existe significación estadística ($p=0,048$ y $p=0,043$). Para la segunda, indicios de significación ($p=0,132$).

En la siguiente tabla se muestran los resultados del estudio de asociación entre la práctica de labores agrícolas y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif. Pesticidas/ Agricultura	SI			NO			D _{K-W}	D _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p´ DDT	12	-0,47	21,58	19	1,67	13,06	0,839	0,255
D p, p´ DDT	13	-17,07	42,08	19	6,63	48,40	0,173	0,182
D p, p´ DDE	13	63,81	234,85	22	86,45	288,34	0,562	0,462
D Σ DDT	13	58,31	366,95	22	178,21	421,37	0,260	0,936
D HCB	13	84,65	307,67	22	-6,34	53,12	0,657	0,521
D Lindano	13	46,79	169,17	22	-4,70	14,81	0,339	0,195
D Aldrín	13	-1,02	7,10	20	-2,41	13,28	0,774	0,305
D Endrín	13	46,30	166,90	22	-22,56	118,83	0,517	0,398
D Dieldrín	12	23,01	60,34	19	-4,43	18,34	0,224	0,235
D E-I	12	10,52	55,70	22	2,92	17,45	0,801	0,258
D Σ endosulfan	13	130,86	209,82	22	-38,11	101,41	0,017	0,123

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Tan sólo para la suma de endosulfanes parece encontrarse una asociación significativa entre no tener antecedentes de trabajo agrícola y la caída de los valores de endosulfán acumulado en el tejido adiposo, cuando se compara con la variación experimentada por las mujeres con antecedentes de trabajos agrícolas en que los valores medios se incrementan con el tiempo, como sugiere un valor D positivo.

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre el uso continuado de insecticidas y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif. Pesticidas/ Uso insecticidas	SI			NO			D _{K-W}	D _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p´ DDT	3	1,70	13,88	28	0,74	17,04	0,894	0,764
D p, p´ DDT	3	-23,46	27,77	29	-0,88	48,11	0,383	0,931
D p, p´ DDE	3	2,05	157,69	32	85,16	274,93	0,444	0,823
D Σ DDT	3	69,88	327,26	32	139,65	410,92	0,768	0,790
D HCB	3	72,75	71,14	32	23,20	200,48	0,059	0,466
D Lindano	3	-2,07	15,20	32	15,97	109,00	0,724	0,861
D Aldrin	3	-2,99	5,19	30	-1,75	11,62	0,845	0,733
D Endrin	3	227,24	199,81	32	-18,01	117,05	0,077	0,525
D Dieldrin	3	99,77	83,37	28	-3,83	17,90	0,016	0,144
D E-I	3	25,47	56,93	31	3,68	33,26	0,976	0,687
D Σ Endosulfan	3	209,44	219,54	32	7,32	157,51	0,077	0,426

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

De nuevo, tan sólo para dieldrín se encuentra una asociación significativa entre el uso reconocido de insecticidas y la variación experimentada por los valores medios de la concentración del pesticida, de tal manera que aquellas pacientes que declaran la exposición laboral, sufren un incremento de la concentración del residuo.

4.4.3.2.f. Asociación entre las diferencias de pesticidas en tejido graso y variables de interés clínico

Como puede observarse en la tabla que se muestra a continuación, no se aprecia asociación entre el estadio tumoral y la diferencia de los niveles de residuos organoclorados en tejido graso.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
D o, p' DDT	25	-0,171	0,415
D p, p' DDT	26	-0,184	0,369
D p, p' DDE	29	-0,052	0,790
D Σ DDT	29	-0,217	0,259
D HCB	29	0,014	0,943
D Lindano	29	-0,214	0,265
D Aldrin	27	0,112	0,577
D Endrin	29	-0,127	0,511
D Dieldrin	26	0,150	0,466
D E-I	28	-0,080	0,687
D Σ Endosulfan	29	-0,259	0,175

*ng/g; Coeficiente de correlación de Spearman

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre la radioterapia y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif. Pesticidas/ Radioterapia	SI			NO			D _{K-W}	D _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p´ DDT	27	2,28	11,75	4	-8,97	37,41	0,556	0,009
D p, p´ DDT	28	-0,82	44,17	4	-18,21	68,34	0,494	0,012
D p, p´ DDE	31	80,56	277,37	4	58,52	184,52	0,836	0,719
D Σ DDT	31	161,05	407,40	4	-78,50	305,12	0,254	0,531
D HCB	31	32,39	202,04	4	-10,87	102,64	0,756	0,012
D Lindano	31	16,23	110,73	4	0,40	17,88	0,678	0,793
D Aldrín	29	-1,72	11,22	4	-2,89	12,10	0,796	0,848
D Endrín	31	11,58	145,26	4	-63,38	74,40	0,162	0,872
D Dieldrín	27	7,77	43,56	4	-4,49	24,33	0,596	0,978
D E-I	30	9,07	30,11	4	-20,39	62,20	0,789	0,005
D Σ endosulfan	31	9,94	143,06	4	138,59	318,83	0,756	0,519

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como se puede apreciar en la tabla precedente, existe una asociación significativa entre el hecho de haber recibido radioterapia postoperatoria y la variación experimentada por los valores medios de la concentración del pesticida, de tal manera que aquellas pacientes que son sometidas a radioterapia tras la intervención quirúrgica sufren un incremento de la concentración de o, p´DDT, HCB y endosulfán α frente a aquellas que no reciben radiación.

La tabla siguiente muestra los resultados del estudio de asociación entre la quimioterapia preoperatoria y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif. Pesticidas/ Quimioterapia Preoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	5	2,36	6,97	26	0,546	17,91	0,872	0,664
D p, p' DDT	6	17,80	46,36	26	-7,80	46,39	0,161	0,466
D p, p' DDE	7	-63,37	185,66	28	113,39	274,21	0,149	0,647
D Σ DDT	7	-64,68	234,87	28	183,27	421,05	0,117	0,911
D HCB	7	-14,52	72,56	28	37,94	212,21	0,433	0,968
D Lindano	7	-7,08	10,40	28	19,80	116,26	0,216	0,996
D Aldrín	6	-10,50	10,22	27	0,05	10,57	0,037	0,014
D Endrín	7	-65,49	174,28	28	20,14	128,56	0,343	0,044
D Dieldrín	7	-3,94	20,04	24	9,14	45,83	0,539	0,982
D E-I	7	-4,45	19,47	27	8,21	38,13	0,317	0,765
D Σ endosulfan	7	-73,63	100,16	28	49,21	175,63	0,063	0,067

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como puede observarse en la tabla, los valores medios de la variación de los residuos de aldrín y endrín son mayores y de claro sentido disminución en el caso de las pacientes tratadas con quimioterapia que en el caso de las que no fueron tratadas preoperatoriamente con drogas antineoplásicas.

En la siguiente tabla aparecen los resultados del estudio de asociación entre la quimioterapia postoperatoria y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif. Pesticidas/ Quimioterapia Postoperatoria	SI			NO			P _{K-W}	P _{ANOVA}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	24	-0,10	17,41	7	4,06	13,94	0,813	0,576
D p, p' DDT	25	-3,87	50,45	7	0,11	33,10	0,506	0,555
D p, p' DDE	28	56,76	271,69	7	163,148	243,46	0,174	0,439
D Σ DDT	28	133,77	399,65	7	133,28	437,69	0,967	0,997
D HCB	28	-7,66	56,18	7	167,93	409,26	0,117	0,341
D Lindano	28	16,47	116,72	7	6,24	14,25	0,091	0,442
D Aldrín	26	-3,39	11,38	7	3,79	8,63	0,143	0,268
D Endrín	28	8,54	154,22	7	-19,12	62,03	0,650	0,695
D Dieldrín	25	7,17	45,45	6	2,08	19,68	0,438	0,700
D E-I	27	5,77	39,32	7	4,95	11,28	0,983	0,641
D Σ endosulfan	28	3,76	149,60	7	108,16	228,12	0,187	0,366

*ng/g; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como se aprecia en la tabla existen indicios de significación estadística para la asociación entre no haber recibido quimioterapia postoperatoria y el incremento de los valores de HCB y aldrín acumulado en el tejido adiposo, cuando se compara con la variación experimentada por las mujeres que han recibido tratamiento quimioterápico adyuvante tras la cirugía, en que los valores medios disminuyen con el tiempo, como sugiere un valor D negativo.

En la siguiente tabla aparecen los resultados del estudio de asociación entre el tipo de cirugía a que fueron sometidas las pacientes y las diferencias encontradas entre los niveles de residuos de pesticidas estimadas en tejido abdominal y tejido mamario, es decir, a los tres meses de seguimiento y en el momento de la intervención quirúrgica mamaria.

Dif Pesticidas/ Cirugía	Tumorectomía + VA			Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			D _{K-W}	D _{Anova}
	n	Media*	DS	n	Media*	DS	n	Media*	DS		
D o, p' DDT	3	0,31	15,13	12	1,75	15,39	16	0,25	18,53	0,912	0,706
D p, p' DDT	4	-22,81	21,10	11	8,07	43,19	17	-5,49	52,88	0,414	0,631
D p, p' DDE	4	18,81	154,31	14	118,08	285,12	17	59,00	278,51	0,914	0,479
D Σ DDT	4	64,21	277,44	14	295,47	470,68	17	16,77	329,10	0,208	0,245
D HCB	4	49,51	82,98	14	68,43	291,76	17	-11,48	72,62	0,359	0,345
D Lindano	4	-6,10	13,46	14	2,62	15,66	17	28,97	149,73	0,216	0,722
D Aldrin	4	2,57	12,33	13	-2,36	10,76	16	-2,58	11,65	0,951	0,695
D Endrin	4	170,52	198,76	14	36,07	91,85	17	-63,63	122,05	0,058	0,410
D Dieldrin	4	78,34	80,32	11	-7,32	16,67	16	-2,55	19,05	0,024	0,202
D E-I	3	20,27	60,63	14	11,71	33,30	17	-2,01	32,64	0,795	0,578
D Σ Endosulfan	4	197,58	171,65	14	7,71	113,08	17	-2,10	191,56	0,038	0,318

*ng/g; VA: Vaciamiento axilar; Coeficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Es posible observar que existe una asociación estadísticamente significativa entre el incremento de los valores medios de dieldrín y el hecho de haber sido sometidas a tumorectomía más linfadenectomía axilar, de manera que las pacientes sometidas a este tipo de cirugía ven aumentados los niveles medios de dieldrín en tejido adiposo frente a las pacientes que son intervenidas utilizando la técnica de cuadrantectomía o mastectomía más VA. Por otro lado, también existe asociación estadísticamente significativa entre el tipo de cirugía y el descenso en los niveles medios de Σ endosulfán, de manera que las mujeres que son intervenidas mediante la técnica de Madden experimentan un descenso en los niveles medios de Σ endosulfán frente a las pacientes que reciben otra técnica.

4.4.3.3. Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β (TEXB) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y las variables de interés

4.4.3.3.a. Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β (TEXB) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y la edad

La siguiente tabla muestra los resultados obtenidos en la asociación entre la edad y las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β estimada a los tres meses y estimada en el momento de la intervención quirúrgica.

Se puede observar que cuanto mayor es la edad de las participantes, menor es la diferencia de TEXB α (Eq/gr) a los tres meses y la TEXB α (Eq/gr) en el momento del inicio del estudio. Para esta correlación existen indicios de significación estadística ($p=0,143$).

	Edad		
	n	r	p
D Alfa (Eq/ml)	16	-0,358	0,173
D Alfa (Eq/gr)	16	-0,386	0,143
D Beta (Eq/ml)	33	-0,118	0,413
D Beta (Eq/ gr)	33	-0,112	0,533

Coficiente de correlación de Spearman

4.4.3.3.b. Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β (TEXB) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y las variables obstétricas

La tabla que se muestra a continuación recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de TEXB α y β a los tres meses y TEXB α y β en el momento de la intervención quirúrgica y el hecho de estar o no embarazada.

E-SCREEN/ Embarazo	SI			NO			D _{K-W}	D _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eeq/ml)	14	186,42	701,60	2	1317,88	1855,15	0,039	0,146
D Alfa (Eeq/gr)	14	369,19	1423,29	2	2884,93	4063,24	0,057	0,233
D Beta (Eeq/ml)	28	-6,32	25,40	5	870,01	1977,40	0,725	0,265
D Beta (Eeq/ gr)	28	-59,21	156,04	5	1579,23	3755,17	0,514	0,410

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Como se puede observar en la tabla precedente, de nuevo la variable embarazo parece condicionar la variabilidad de las medidas de residuo en tejido adiposo, de tal manera que en aquellas pacientes que refieren no haber gestado, se produce un incremento en las medidas de residuo en tejido adiposo abdominal con respecto a las que sí refieren embarazos previos.

La tabla que se muestra a continuación recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de TEXB α y β a los tres meses y TEXB α y β en el momento de la intervención quirúrgica y el número de hijos nacidos vivos y el número de meses de lactancia materna.

	Nº hijos nacidos vivos			Meses lactancia materna		
	n	r	p	n	r	p
D Alfa (Eeq/ml)	16	-0,493	0,052	12	-0,653	0,021
D Alfa (Eeq/gr)	16	-0,525	0,037	12	-0,670	0,017
D Beta (Eeq/ml)	33	-0,349	0,046	29	-0,222	0,246
D Beta (Eeq/ gr)	33	-0,430	0,012	29	-0,329	0,081

Coefficiente de correlación de Spearman

De esta manera, cuanto mayor es el número de hijos nacidos vivos menor es la diferencia entre la TEXB α y β a los tres meses y TEXB α y β en el momento de la intervención quirúrgica ($p=0,052$, $p=0,037$, $p=0,046$ y $p=0,012$). Lo mismo ocurre para la variable número de meses de lactancia

materna y en el mismo sentido. De esta forma, cuanto mayor es el número de meses de lactancia, menor es la diferencia entre la $TEXB_{\alpha}$ y β a los tres meses y $TEXB_{\alpha}$ y β en el momento de la intervención quirúrgica ($p=0,021$, $p=0,017$, $p=0,081$).

4.4.3.3.c. Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β ($TEXB$) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y el IMC

La tabla siguiente recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de $TEXB_{\alpha}$ y β a los tres meses y $TEXB_{\alpha}$ y β en el momento de la intervención quirúrgica y el IMC en la intervención y el IMC a los tres meses.

	IMC intervención			IMC 3 meses		
	n	r	p	n	r	p
D Alfa (Eeq/ml)	16	-0,294	0,269	16	-0,262	0,327
D Alfa (Eeq/gr)	16	-0,368	0,161	16	-0,338	0,200
D Beta (Eeq/ml)	33	-0,076	0,676	33	0,052	0,775
D Beta (Eeq/ gr)	33	-0,063	0,728	33	-0,035	0,848

Coefficiente de correlación de Spearman

No se aprecia asociación entre el IMC (en la intervención quirúrgica ni a los tres meses) y la diferencia de carga estrogénica total efectiva de las fracciones α y β .

4.4.3.3.d. Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β ($TEXB$) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y variables de formación y ocupación laboral

No se observa asociación entre la diferencia de carga estrogénica total efectiva de las fracciones α y β y el porcentaje de ruralidad y nivel de escolaridad.

	% ruralidad			Nivel de escolaridad		
	n	r	p	n	r	p
D Alfa (Eeq/ml)	16	0,147	0,586	16	0,085	0,755
D Alfa (Eeq/gr)	16	0,083	0,761	16	-0,008	0,975
D Beta (Eeq/ml)	33	-0,207	0,248	33	-0,049	0,786
D Beta (Eeq/ gr)	33	-0,083	0,645	33	-0,172	0,339

Coefficiente de correlación de Spearman

La tabla que se muestra a continuación recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de $TEXB \alpha$ y β a los tres meses y $TEXB \alpha$ y β en el momento de la intervención quirúrgica y el hecho de haber realizado o no actividades agrícolas.

E-SCREEN/ Agricultura	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eeq/ml)	4	-1,49	5,93	12	437,63	1022,58	0,101	0,069
D Alfa (Eeq/gr)	4	-15,07	28,52	12	916,56	2159,84	0,275	0,900
D Beta (Eeq/ml)	12	-8,86	25,84	21	203,77	963,41	0,765	0,851
D Beta (Eeq/ gr)	12	-70,84	168,65	21	337,53	1828,45	0,454	0,712

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Existen indicios de significación estadística en la asociación entre el hecho de haber trabajado en la agricultura y los valores medios de la $TEXB \alpha$ (Eeq/ml), de manera que las pacientes que no han tenido relación con la agricultura experimentan un incremento en los valores medios de la $TEXB \alpha$ (Eeq/ml), frente a las mujeres que han trabajado en el campo.

La tabla que se muestra a continuación recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de $TEXB \alpha$ y β a los tres meses y $TEXB \alpha$ y β en el momento de la intervención quirúrgica y el hecho de haber usado de forma continuada o no insecticidas.

E-SCREEN/ Uso insecticidas	SI			NO			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eeq/ml)	2	2,59	4,01	14	374,31	954,31	0,751	0,985
D Alfa (Eeq/gr)	2	4,90	7,93	14	780,62	2016,61	0,634	0,935
D Beta (Eeq/ml)	3	6,70	5,78	30	138,42	806,62	0,091	0,762
D Beta (Eeq/ gr)	3	14,48	8,323	30	206,49	1535,23	0,052	0,742

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Se puede observar en la tabla anterior que existen indicios de significación estadística entre el uso continuado de insecticidas y la $TEXB \beta$ (Eeq/ml y Eeq/gr). De esta manera, las mujeres que no han tenido contacto con insecticidas experimentan un incremento de los valores medios de $TEXB \beta$, frente a aquellas que si han usado de forma continuada insecticidas.

4.4.3.3.e. Asociación entre las diferencias de carga estrogénica total efectiva α y β (TEXB) estimada a los 3 meses y en la intervención quirúrgica y variables de interés clínico

La tabla siguiente recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de TEXB α y β a los tres meses y TEXB α y β en el momento de la intervención quirúrgica y el estadio tumoral.

	Estadio tumoral		
	n	r	p
D Alfa (Eq/ml)	14	-0,314	0,274
D Alfa (Eq/gr)	14	-0,314	0,274
D Beta (Eq/ml)	28	-0,160	0,415
D Beta (Eq/ gr)	28	-0,197	0,315

Coefficiente de correlación de Spearman

Como se puede observar no existe correlación entre el estadio tumoral y la diferencia de TEXB α y β a los tres meses y la TEXB α y β en la intervención quirúrgica.

La tabla siguiente muestra los resultados de la asociación entre la diferencia de TEXB α y β a los tres meses y TEXB α y β en el momento de la intervención quirúrgica y el hecho de haber recibido o no radioterapia postoperatoria.

E-SCREEN/ Radioterapia	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eq/ml)	14	375,48	953,81	2	-5,59	4,73	0,081	0,668
D Alfa (Eq/gr)	14	786,33	2014,16	2	-35,04	27,96	0,795	0,806
D Beta (Eq/ml)	29	146,06	819,85	4	-15,72	34,87	0,869	0,957
D Beta (Eq/ gr)	29	230,94	1556,82	4	-114,79	236,23	0,869	0,962

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

Se aprecian indicios de significación estadística entre la radioterapia postoperatoria y los valores medios de TEXB α (Eq/ml). Es decir, las participantes que recibieron radioterapia experimentan un incremento de los valores medios de TEXB α (Eq/ml), frente a aquellas que no recibieron este tratamiento.

Se muestran en la tabla siguiente los resultados de la asociación entre la diferencia de TEXB α y β a los tres meses y TEXB α y β en el momento de la

intervención quirúrgica y el hecho de haber recibido o no quimioterapia preoperatoria o no.

E-SCREEN/ Quimioterapia preoperatoria	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eq/ml)	3	2,86	2,87	13	402,85	987,04	0,313	0,993
D Alfa (Eq/gr)	3	9,01	6,62	13	839,34	2086,46	0,158	0,895
D Beta (Eq/ml)	7	4,67	11,90	26	159,23	866,79	0,271	0,647
D Beta (Eq/ gr)	7	2,59	30,59	26	239,23	1650,90	0,454	0,608

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

No se aprecia asociación entre la quimioterapia preoperatoria y la diferencia entre los niveles de $TEXB \alpha$ y β a los tres meses y los niveles de $TEXB \alpha$ y β en el momento de la operación mamaria.

La tabla que se muestra a continuación recoge los resultados de la asociación entre la diferencia de $TEXB \alpha$ y β a los tres meses y $TEXB \alpha$ y β en el momento de la intervención quirúrgica y el hecho de haber recibido o no quimioterapia postoperatoria.

E-SCREEN/ Quimioterapia postoperatoria	SI			NO			p _{K-W}	p _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eq/ml)	13	201,41	727,91	3	875,73	1518,95	0,840	0,301
D Alfa (Eq/gr)	13	399,79	1476,62	3	1913,74	3329,30	0,946	0,342
D Beta (Eq/ml)	27	-5,88	25,68	6	721,95	1805,45	0,926	0,298
D Beta (Eq/ gr)	27	-57,14	158,16	6	1296,86	3429,31	0,709	0,424

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

No se aprecia asociación entre la quimioterapia postoperatoria y la diferencia entre los niveles de $TEXB \alpha$ y β a los tres meses y los niveles de $TEXB \alpha$ y β en el momento de la intervención quirúrgica.

En la tabla que se muestra a continuación se recogen los resultados de la asociación entre la diferencia de $\text{TEXB } \alpha$ y β a los tres meses y $\text{TEXB } \alpha$ y β en el momento de la intervención quirúrgica y el tipo de tratamiento quirúrgico.

E-SCREEN/ Tipo Cirugía	Tumorectomía + VA			Cuadrantectomía + VA			Mastectomía radical modificada (Madden)			P _{K-W}	P _{Anova}
	n	Media	DS	n	Media	DS	n	Media	DS		
D Alfa (Eq/ml)	2	2,59	4,00	4	-1,95	8,10	10	524,82	1107,86	0,827	0,258
D Alfa (Eq/gr)	2	4,46	8,55	4	-19,44	45,60	10	1100,74	2339,86	0,868	0,211
D Beta (Eq/ml)	3	-3,19	17,07	14	-5,77	20,92	16	266,45	1104,56	0,957	0,884
D Beta (Eq/gr)	3	-33,72	83,90	14	-58,23	116,77	16	447,16	2100,62	0,957	0,782

Coefficientes de correlación de Kruskal-Wallis y ANOVA

No se aprecia asociación entre el tipo de cirugía y la diferencia entre los niveles de $\text{TEXB } \alpha$ y β a los tres meses y los niveles de $\text{TEXB } \alpha$ y β al inicio del estudio.

RESULTADOS

4.5. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Para llevar a cabo el análisis multivariante se ha considerado la concentración de cada uno de los pesticidas en tejido adiposo mamario al comienzo del seguimiento como variable dependiente. El conjunto de variables independientes es siempre el mismo en todos los análisis llevados a cabo. Las variables independientes tenidas en cuenta en este análisis han sido:

- Edad
- Ámbito: Rural/Urbano
- Embarazo: No/Sí
- Número de hijos nacidos vivos
- Lactancia materna: No/Sí
- Número de meses de lactancia materna
- Índice de masa corporal al inicio del estudio
- Nivel de escolaridad:
- Trabajo en la agricultura: No/Sí
- Uso continuado de insecticidas: No/Sí
- Estadio tumoral: TNM: Estadios I, II, III y IV
- Radioterapia: No/Sí
- Quimioterapia preoperatoria: No/Sí
- Quimioterapia postoperatoria: No/Sí
- Tipo de cirugía: Tumorectomía junto con linfadenectomía axilar homolateral; Cuadrantectomía más linfadenectomía axilar homolateral; Mastectomía (Madden)

Las tablas indican el valor de los coeficientes para cada variable independiente (B), la ordenada en el origen (constante), el error típico y la significación estadística.

4.5.1. Análisis multivariante para niveles de pesticidas en tejido adiposo mamario y las variables seleccionadas

4.5.1.1 Análisis multivariante para los niveles de o, p´DDT en tejido adiposo mamario

Con objeto de determinar el efecto independiente de cada una de las variables sobre la variable o, p´DDT, se hizo una regresión lineal múltiple incluyendo las variables que en el análisis bivariante dieron significativas o estuvieron cerca de la significación estadística ($p < 0,15$).

En este caso se consideran en el modelo las variables quimioterapia preoperatoria y si ha dado lactancia materna. Hecho el test global para las dos variables presentes en el modelo, se obtuvo una $F_{exp} = 2,74$ (2;31) g.l. y una $p = 0,080$, lo que nos indica que hay indicios de que al menos una de las variables está asociada con la variable dependiente, lo que nos llevará a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las dos variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2 = 0,150$, lo que significa que son capaces de explicar el 15% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la siguiente tabla:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-0,467	1,141	-0,410	0,685
Lactancia materna	0,837	0,470	1,781	0,085
Quimioterapia Preoperatoria	0,718	0,561	1,278	0,211

o, p´ DDT

Como se ve en la tabla, una vez que se controla por la otra variable presente en el modelo, la variable lactancia materna muestra indicios de significación, $p = 0,085$, en el sentido de que las mujeres que no dieron lactancia materna tienen un nivel medio de o, p´DDT en tejido adiposo superior a las que amamantaron a sus hijos. De la misma manera, cuando controla por la otra variable presente en el modelo, la variable quimioterapia preoperatoria no alcanza la significación, $p = 0,211$, lo que nos indica que controlando por la variable lactancia materna, el efecto de la quimioterapia preoperatoria sobre o, p´DDT no es significativo.

4.5.1.2. Análisis multivariante para los niveles de p, p´DDT en tejido adiposo mamario

Para la variable p, p´DDT se han tenido en cuenta en el modelo las variables independientes *edad*, *uso continuado de insecticidas* y *la realización de trabajos agrícolas*. Se realiza el test global para estas tres variables presentes en el modelo y se obtuvo una $F_{exp}=4,07$ (3;30) g.l. y una $p=0,015$, que nos indica que hay indicios de que al menos una de las variables está asociada con la variable dependiente, lo que nos llevará a ver cual o cuales de ellas estarán asociadas. Las tres variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,289$, lo que significa que son capaces de explicar casi el 30% de la variabilidad de la variable dependiente.

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-8,469	3,160	-2,680	0,012
Ha trabajado en Agricultura	1,136	0,847	1,341	0,190
Ha aplicado de forma continua insecticidas	1,587	1,417	1,120	0,272
Edad	0,096	0,036	2,672	0,012

p, p´DDT

Una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, la variable *edad* es estadísticamente significativa, $p=0,012$. De esta manera, las mujeres con mayor edad del estudio tienen un nivel medio de p, p´DDT en tejido adiposo mamario que las pacientes más jóvenes. Destacar que cuando se controla por las otras dos variables presentes en el modelo, la variable *ha trabajado en la agricultura* y la variable *ha aplicado de forma continuada insecticidas* no alcanzan la significación estadística, $p=0,190$ y $p=0,272$ respectivamente. Esto indica que si controlamos por la variable *edad*, *el efecto de haber trabajado en la agricultura y haber usado de forma continuada insecticidas* sobre p, p´DDT, no es significativo.

4.5.1.3. Análisis multivariante para los niveles de p, p´DDE en tejido adiposo mamario

Se han incluido en este modelo las variables independientes *índice de masa corporal en la intervención, lactancia materna, radioterapia, edad, realización de trabajos agrícolas y nivel educativo*. Realizado el test global para estas variables presentes en el modelo, se obtuvo una $F_{exp}=4,38$ (6;28) g.l. $p=0,003$, que nos indica que hay indicios de que al menos una de las variables está asociada con la variable dependiente, lo que nos llevará a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,484$, lo que significa que son capaces de explicar un 48% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	4,043	1,124	3,597	0,001
Ha trabajado en Agricultura	0,213	0,259	0,822	0,418
Lactancia materna	0,381	0,206	1,850	0,075
Radioterapia	-0,044	0,346	-0,126	0,901
Edad	0,006	0,012	0,563	0,578
Nivel de escolaridad	-0,158	0,085	-1,859	0,074
IMC inicial	0,035	0,015	2,253	0,032

p, p DDE

Cuando las variables, *lactancia materna y nivel de escolaridad*, se controlan por las otras variables presentes en el modelo, muestran indicios de significación ($p=0,075$ y $p=0,074$, respectivamente). De esta manera, las pacientes que no dieron lactancia materna tienen niveles superiores de p, p´DDE en tejido graso mamario que aquellas que sí dieron lactancia. Así mismo, las participantes con menor nivel educativo tienen menor concentración en tejido adiposo mamario de p, p´DDE que las mujeres con mayor nivel de escolaridad. Por otra parte, controladas por el resto de variables del modelo, las variables *ha trabajado en agricultura, radioterapia, edad e índice de masa corporal* al inicio del estudio, no son estadísticamente significativas.

4.5.1.4. Análisis multivariante para los niveles de la Σ DDT en tejido adiposo mamario

En el siguiente modelo se han incluido las variables *lactancia materna*, *quimioterapia neoadyuvante*, *edad*, *nivel educativo* e *índice de masa corporal* en la intervención. Realizado el test global para estas variables presentes en el modelo se obtuvo una $F_{exp}=4,65$ (5;29) g.l. y una $p=0,003$, que nos indica que hay indicios de que al menos una de las variables está asociada con la variable dependiente. De manera, que se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,445$, lo que significa que son capaces de explicar un 44% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	4,137	0,873	4,738	0,000
Lactancia materna	0,395	0,185	2,130	0,042
Quimioterapia Preoperatoria	0,653	0,262	2,495	0,019
Edad	9,381E-05	0,011	0,008	0,993
Nivel de escolaridad	-0,038	0,071	-0,535	0,597
IMC inicial	0,015	0,014	1,045	0,305

Σ DDT

Una vez que se ha controlado por el resto de variables incluidas en el modelo, se puede apreciar que las variables *lactancia materna* y *quimioterapia preoperatoria* son estadísticamente significativas ($p=0,042$ y $p=0,019$, respectivamente). Es decir, las pacientes que no amamantaron a sus hijos tienen niveles más altos de la Σ DDT en grasa mamaria que aquellas que sí dieron lactancia. En el mismo sentido, las mujeres que no se sometieron a quimioterapia preoperatoria tienen también niveles más altos de Σ DDT que aquellas que sí recibieron este tratamiento neoadyuvante.

4.5.1.5. Análisis multivariante los niveles de HCB en tejido adiposo mamario

Las variables independientes del siguiente modelo son *ámbito*, *edad*, *nivel de escolaridad*, *índice de masa corporal en la intervención*, *trabajos agrícolas*, *aplicación continuada de insecticidas*, *tratamiento quirúrgico recibido* y *quimioterapia postoperatoria*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=2,99$ (8;26) g.l. $p=0,016$ que nos indica que hay indicios de que, al menos una de las variables está asociada con la variable *niveles de HCB*. Se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,479$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 48% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		T	Sig.
	B	Error típico		
Constante	1,591	2,097	0,759	0,455
Ámbito	0,798	0,497	1,605	0,121
Edad	0,033	0,031	1,062	0,298
Nivel de escolaridad	0,013	0,180	0,073	0,943
IMC inicial	0,062	0,032	1,945	0,063
Ha trabajado en Agricultura	-0,281	0,566	-0,497	0,623
Ha aplicado de forma continua insecticidas	-1,868	0,909	-2,054	0,050
Tratamiento Quirúrgico	0,473	0,342	1,383	0,178
Quimioterapia postoperatoria	0,845	0,686	1,232	0,229

HCB

Como se ve en la tabla, una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, la variable *IMC inicial* muestra indicios de significación ($p=0,063$), mientras que la variable *aplicación continuada de insecticidas* es estadísticamente significativa ($p=0,050$). Las pacientes con menor índice de masa corporal al comienzo del estudio, tienen niveles más bajos en grasa mamaria de HCB que aquellas mujeres con mayor índice de masa corporal inicial. Por otro lado, aquellas mujeres que no aplicaron de forma continuada insecticidas, tienen menor concentración en tejido adiposo mamario de HCB que aquellas que tuvieron contacto con estas sustancias.

4.5.1.6. Análisis multivariante para los niveles de endrín en tejido adiposo mamario

Las variables independientes del siguiente modelo son: *aplicación continuada de insecticidas, quimioterapia preoperatoria, tratamiento quirúrgico recibido y estadio tumoral*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=4,26$ (4;24) g.l. y una $p=0,010$ que nos indica que hay indicios de que, al menos una de las variables, está asociada con la variable *niveles de endrín*. Se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,415$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 42% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	4,505	2,400	1,877	0,073
Ha aplicado de forma continua insecticidas	-0,295	0,890	-0,331	0,743
Quimioterapia preoperatoria	1,097	0,611	1,794	0,085
Tratamiento Quirúrgico	-0,935	0,428	-2,184	0,039
Estadio tumoral	-0,251	0,614	-0,410	0,686

Endrín

Una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, la variable *quimioterapia preoperatoria* muestra indicios de significación ($p=0,085$), mientras que la variable *tratamiento quirúrgico* es estadísticamente significativa ($p=0,039$). Las pacientes que no recibieron quimioterapia preoperatoria tienen niveles más altos en grasa mamaria de endrín que aquellas mujeres que fueron sometidas al tratamiento neoadyuvante. Por otro lado, aquellas mujeres tratadas mediante tumorectomía más linfadenectomía axilar tienen niveles más bajos en grasa mamaria de endrín que aquellas pacientes cuyo tratamiento quirúrgico fue más agresivo.

4.5.1.7. Análisis multivariante para los niveles de dieldrín en tejido adiposo mamario

Las variables independientes del siguiente modelo son: *tratamiento quirúrgico recibido y meses de lactancia materna*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=3,94$ (2;26) g.l. y una $p=0,032$ que nos indica que hay indicios de que, al menos una de las variables, está asociada con la variable *niveles de dieldrín*. Se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,233$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 23% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	4,956	1,264	3,919	0,001
Tratamiento Quirúrgico	-0,973	0,503	-1,933	0,064
Meses de lactancia materna	-0,042	0,023	-1,808	0,082

Dieldrín

Las dos variables incluidas en este modelo muestran indicios de significación estadística ($p=0,064$ y $p=0,082$). De esta manera, las pacientes que fueron operadas realizando la técnica de la tumorectomía junto con linfadenectomía axilar, tienen niveles más bajos de dieldrín en tejido adiposo mamario que aquellas sometidas a mastectomía más disección axilar. Así mismo, las mujeres que cuentan con más meses de lactancia materna, tienen niveles más bajos de dieldrín en su grasa mamaria que aquellas con menos meses de lactancia.

4.5.1.8. Análisis multivariante para los niveles de endosulfán α en tejido adiposo mamario

En el modelo que se presenta a continuación se ha incluido la variable independiente *estadio tumoral*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=2,25$ (1;27) g.l. y una $p=0,145$. Esto nos indica que existe asociación entre el estadio tumoral y los niveles en grasa mamaria de endosulfán α . El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-0,107	1,666	-0,064	0,949
Estadio tumoral	1,145	0,764	1,499	0,145

Endosulfán α

La variable incluida en este modelo muestran indicios de significación estadística ($p=0,145$). Las pacientes que fueron diagnosticadas en un estadio precoz muestran niveles de endosulfán α más altos que aquellas mujeres con enfermedad más avanzada.

4.5.1.9. Análisis multivariante para los niveles de Σ endosulfán en tejido adiposo mamario

En el siguiente modelo se incluye la variable independiente *tratamiento quirúrgico*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=5,42$ (1;33) g.l. y una $p=0,026$ que indica que esta variable está asociada con la de *niveles de endosulfán α en tejido adiposo mamario*. La variable presente en el modelo da un coeficiente de determinación, $R^2=0,141$. Puede explicar un 14% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	5,704	0,598	9,533	0,000
Tratamiento Quirúrgico	-0,565	0,243	-2,329	0,026

Σ endosulfán

La variable incluida en este modelo muestra significación estadística ($p=0,026$). Las pacientes tratadas mediante tumorectomía y disección axilar

tienen niveles más bajos de Σ endosulfán en tejido graso mamario que aquellas que recibieron la técnica de Madden.

4.5.1.10. Análisis multivariante para los niveles de la fracción α en tejido adiposo mamario (Eeq/ml)

En el siguiente modelo se incluye la variable independiente *ha estado embarazada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=3,99$ (1;20) g.l. y una $p=0,060$ que indica que aquella está asociada con la variable *niveles de la fracción α (Eeq/ml) en tejido adiposo mamario*. La variable presente en el modelo da un coeficiente de determinación, $R^2=0,166$. Es decir, *ha estado embarazada* puede explicar un 16% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-2,813	1,797	-1,566	0,133
Ha estado embarazada	3,024	1,514	1,998	0,060

Fracción α (Eeq/ml)

La variable incluida en este modelo muestra indicios de significación estadística ($p=0,060$). De esta manera, las pacientes que no han estado embarazadas, tienen niveles más altos de la fracción α (Eeq/ml) en tejido adiposo mamario que aquellas que si estuvieron embarazadas.

4.5.1.11. Análisis multivariante para los niveles de la fracción α en tejido adiposo mamario (Eeq/gr)

En el siguiente modelo se incluye la misma variable independiente *ha estado embarazada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=4,97$ (1;20) g.l. y una $p=0,037$ que indica que *ha estado embarazada* está asociada con la variable *niveles de la fracción α (Eeq/gr) en tejido adiposo mamario*. Da un coeficiente de determinación, $R^2=0,199$. Es decir, *ha estado embarazada* puede explicar un 20% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-2,214	1,768	-1,252	0,225
Ha estado embarazada	3,323	1,489	2,231	0,037

Fracción α (Eq/gr)

La variable incluida en este modelo muestra significación estadística ($p=0,037$). De esta manera, las pacientes que no han estado embarazadas tienen niveles más altos de la fracción α (Eq/gr) en tejido adiposo mamario que aquellas que sí estuvieron embarazadas.

4.5.1.12. Análisis multivariante para el porcentaje lipídico en tejido adiposo mamario

Para la variable *porcentaje lipídico* se consideran en el modelo las variables *ámbito*, *ha estado embarazada*, *ha dado lactancia materna*, *ha aplicado insecticidas de forma continuada*, *tratamiento quirúrgico* y *estadio tumoral*. Hecho el test global para las dos variables presentes en el modelo se obtuvo una $F_{exp}=4,73$ (6;22) g.l. y una $p=0,003$, lo que nos indica que hay indicios de que, al menos una de ellas, está asociada con la variable dependiente lo que nos llevará a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,563$, lo que significa que son capaces de explicar el 56% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la siguiente tabla:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	3,085	0,405	7,613	0,000
Ámbito	0,018	0,096	0,183	0,857
Ha estado embarazada	-0,120	0,149	-0,805	0,429
Ha dado lactancia materna	-0,105	0,118	-0,892	0,382
Ha aplicado de forma continua insecticidas	0,514	0,182	2,826	0,010
Tratamiento Quirúrgico	-0,090	0,081	-1,111	0,279
Estadio tumoral	0,315	0,112	2,804	0,010

Porcentaje lipídico

Como se ve en la tabla, una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, las variables *uso continuado de insecticidas* y *estadio*

tumora,l presentan significación estadística, $p=0,010$ para ambas. De esta forma, las mujeres que no han aplicado insecticidas de forma continuada tienen un porcentaje lipídico en grasa mamaria mayor que aquellas que sí han usado insecticidas. En el mismo sentido, las pacientes con enfermedad tumoral en estadios precoces, tienen también un porcentaje lipídico en grasa mamaria más alto que aquellas con enfermedad avanzada.

4.5.1.13. Análisis multivariante para los niveles de la fracción β en tejido adiposo mamario (Eeq/ml)

Se incluye en este modelo la variable independiente *ha estado embarazada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=4,62$ (1;31) g.l. y una $p=0,039$ que indica que esta variable está asociada con la de *niveles de la fracción β (ml) en tejido adiposo mamario*. La variable presente en el modelo da un coeficiente de determinación, $R^2=0,130$. Es decir, la variable ha estado embarazada puede explicar un 13% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-1,320	1,161	-1,138	0,264
Ha estado embarazada	2,070	0,963	2,150	0,039

Fracción β (Eeq/ml)

La variable incluida en este modelo muestra significación estadística ($p=0,039$). De esta manera, las pacientes que no han estado embarazadas, tienen niveles más altos de la fracción β (Eeq/ml) en tejido adiposo mamario que aquellas que sí estuvieron embarazadas.

4.5.1.14. Análisis multivariante para los niveles de la fracción β en tejido adiposo mamario (Eeq/gr)

En el siguiente modelo se incluyen las variables independientes *ha estado embarazada* y *quimioterapia postoperatoria*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=3,89$ (2;20) g.l. y una $p=0,031$ que indica que, al menos una de las variables, está asociada con la variable *niveles de la fracción β (Eeq/gr) en tejido adiposo mamario*. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,206$. Es decir, las variables independientes puede explicar un 20% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-1,129	1,205	-0,937	0,356
Ha estado embarazada	1,244	0,992	1,254	0,220
Quimioterapia postoperatoria	1,514	0,922	1,642	0,111

Fracción β (Eeq/gr)

Como se ve en la tabla, una vez que se controla por la otra variable presente en el modelo, *quimioterapia postoperatoria* muestra indicios de significación, $p=0,111$, en el sentido de que las mujeres que no recibieron quimioterapia adyuvante, tienen un nivel medio de fracción β (Eeq/gr) en tejido adiposo superior a las que sí la recibieron. De la misma manera, cuando controla por la otra variable presente en el modelo, la variable *ha estado embarazada* no alcanza la significación, $p=0,220$, lo que nos indica que, controlando por la variable *quimioterapia postoperatoria*, el efecto de la variable *ha estado embarazada* sobre la variable *niveles de la fracción β* , no es significativo.

4.5.2. Análisis multivariante para las diferencias de los niveles de pesticidas en tejido graso abdominal y niveles en tejido graso mamario y las variables seleccionadas

Con objeto de determinar el efecto independiente de cada una de las variables sobre la variable diferencia de pesticida (diferencia entre los niveles de ese pesticida en tejido graso abdominal y niveles de ese mismo pesticida en tejido graso mamario), se hizo una regresión lineal múltiple incluyendo algunas variables que, en el análisis bivalente, dieron significativas o estuvieron cerca de la significación estadística ($p < 0,15$).

4.5.2.1 Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de o, p´DDT

Para esta variable se consideran en el modelo las variables *número de meses de lactancia materna, si ha dado lactancia materna y número de hijos nacidos vivos*. Hecho el test global para las dos variables presentes en el modelo, se obtuvo una $F_{exp} = 2,17$ (3;23) g.l. y una $p = 0,118$, lo que nos indica que, hay indicios de que al menos una de ellas está asociada con la variable dependiente lo que nos llevará a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las dos variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2 = 0,221$, lo que significa que son capaces de explicar el 22% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la siguiente tabla:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	6,507	1,777	3,662	0,001
Ha dado lactancia materna	-0,949	0,972	-0,977	0,339
Número de hijos nacidos vivos	-0,619	0,354	-1,752	0,093
Número de meses que da lactancia materna	-0,014	0,027	-0,529	0,602

Diferencia o, p´DDT

Una vez que se controla por las variables presentes en el modelo, la variable *número de hijos nacidos vivos* muestra indicios de significación, $p = 0,093$, en el sentido de que cuanto mayor es el número de éstos menor es la

diferencia entre los niveles de p, p' DDT en grasa abdominal (3 meses) y grasa mamaria (inicio del estudio).

4.5.2.2. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de p, p' DDE

Para la variable *diferencia p, p' DDE* se considera en el modelo la variable *ha dado lactancia materna*. Hecho el test global para la variable presente en el modelo se obtuvo una $F_{exp}=1,66$ (1;33) g.l. y una $p=0,206$, lo que nos indica que las variables no están asociadas.

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	4,462	1,032	4,323	<0,001
Ha dado lactancia materna	0,956	0,741	1,291	0,206

Diferencia p, p' DDE

4.5.2.3. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de HCB

Para la variable *diferencia HCB* se consideran en el modelo las variables *ha dado lactancia materna, ha aplicado de forma continuada insecticidas y nivel de escolaridad*. Se hizo el test global para esas variables presentes en el modelo y se obtuvo una $F_{exp}=0,70$ (3;31) g.l. y una $p=0,554$, lo que nos indica que las variables no están asociadas.

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	4,241	2,582	1,643	0,111
Ha dado lactancia materna	0,864	0,696	1,241	0,224
Ha aplicado de forma continua insecticidas	-0,580	1,148	-0,505	0,617
Nivel de escolaridad	0,089	0,201	0,440	0,663

Diferencia HCB

4.5.2.4. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de Lindano

Para la variable *diferencia Lindano* se consideran en el modelo la variable *radioterapia*. Se hizo el test global para esa variable presente en el modelo y se obtuvo una $F_{exp}=0,07$ (1;33) g.l. y una $p=0,793$, lo que nos indica que las variables no están asociadas.

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	3,076	0,938	3,278	0,002
Radioterapia	0,214	0,810	0,265	0,793

Diferencia Lindano

4.5.2.5. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de Aldrín

Las variables independientes del siguiente modelo son la *quimioterapia preoperatoria* y la *edad*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=4,63$ (2;30) g.l. y una $p=0,018$ que nos indica que hay indicios de que, al menos una de ellas está asociada con la variable *diferencia de aldrín*. Se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,236$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 24% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-1,221	1,342	-0,910	0,370
Quimioterapia preoperatoria	0,854	0,734	1,164	0,254
Edad	0,040	0,027	1,503	0,143

Diferencia Aldrín

Una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, la variable *edad*, muestra indicios de significación estadística, $p=0,143$. De esta manera, las mujeres con mayor edad del estudio, tienen mayor diferencia entre los niveles de aldrín en grasa abdominal y grasa mamaria que las mujeres más jóvenes. Esto indica que, si se controla por la variable *edad*, el efecto de la variable *quimioterapia preoperatoria* sobre la variable *diferencia de aldrín* no es significativo.

4.5.2.6. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de Endrín

Las variables independientes del siguiente modelo son la aplicación de insecticidas, el hecho de haber estado o no embarazada, la lactancia materna, la quimioterapia preoperatoria y el tratamiento quirúrgico. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=1,10$ (5;29) g.l. y una $p=0,378$ que nos indica que no existe asociación entre la diferencia de los niveles de endrín a los 3 meses y los niveles al inicio del estudio y las variables seleccionadas.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	2,834	3,267	0,868	0,393
Ha aplicado de forma continua insecticidas	0,397	1,347	0,295	0,770
Ha estado embarazada	0,154	1,137	0,136	0,893
Ha dado lactancia materna	0,567	0,887	0,639	0,528
Quimioterapia preoperatoria	1,400	0,821	1,705	0,099
Tratamiento Quirúrgico	-0,510	0,554	-0,921	0,365

Diferencia Endrín

4.5.2.7. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de Dieldrín

Las variables independientes del siguiente modelo son la *aplicación de insecticidas, el hecho de haber estado o no embarazada, la lactancia materna, el tratamiento quirúrgico y el nivel de escolaridad*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=2,14$ (5;25) g.l. y una $p=0,093$ que nos indica que, hay indicios de que al menos una de ellas, está asociada con la variable *diferencia de dieldrín*. Se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,300$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 30% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	5,150	2,373	2,171	0,040
Ha aplicado de forma continua insecticidas	-0,282	1,238	-0,228	0,822
Ha estado embarazada	0,587	1,119	0,525	0,604
Ha dado lactancia materna	0,253	0,925	0,274	0,787
Tratamiento Quirúrgico	-0,353	0,505	-0,699	0,491
Nivel de escolaridad	-0,488	0,185	-2,635	0,014

Diferencia Dieldrín

Cuando se controla por las otras variables presentes en el modelo, la variable *nivel de escolaridad* muestra significación estadística, $p=0,014$. De esta manera, las mujeres con menor nivel de escolaridad del estudio, tienen mayor diferencia entre los niveles de dieldrín en grasa abdominal y grasa mamaria que las mujeres con mayor nivel educativo.

4.5.2.8. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de Σ endosulfán

En el siguiente modelo las variables independientes son *la realización de actividades agrícolas, la aplicación de insecticidas y el tratamiento quirúrgico*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=1,64$ (3;31) g.l. y una $p=0,200$. Existen indicios de que, al menos una de ellas, está asociada con la variable diferencia de Σ endosulfán. Se pasa a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,137$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 14% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	7,610	2,257	3,372	0,002
Ha trabajado en Agricultura	-1,164	0,739	-1,575	0,126
Ha aplicado de forma continua insecticidas	0,784	1,439	0,545	0,590
Tratamiento Quirúrgico	-0,836	0,545	-1,534	0,135

Diferencia Σ endosulfán

Una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, las variables *ha trabajado en la agricultura y tratamiento quirúrgico*, muestran indicios de significación estadística, $p=0,126$ y $p=0,135$, respectivamente. De esta manera, las mujeres que no han trabajado en la agricultura tienen menor diferencia de niveles de Σ endosulfán en grasa abdominal y mamaria que aquellas que sí han desarrollado actividades agrícolas. De la misma forma, pacientes que han sido sometidas a tumorectomía tienen menor diferencia de niveles de Σ endosulfán que mujeres que han sido intervenidas mediante mastectomía.

4.5.2.9. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de la fracción α en tejido adiposo y abdominal (Eeq/ml)

En el siguiente modelo se incluye la variable independiente *ha estado embarazada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=3,18$ (1;14) g.l. y una $p=0,096$ que indica que esta variable está asociada con la variable diferencia entre los niveles de la fracción α (Eeq/ml) en tejido adiposo abdominal y los niveles de la fracción α (Eeq/ml) en tejido adiposo mamario. La variable presente en el modelo da un coeficiente de determinación, $R^2=0,185$. Es decir, la variable *ha estado embarazada* puede explicar en torno a un 18% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-945,046	743,161	-1,272	0,224
Ha estado embarazada	1131,465	633,770	1,785	0,096

Diferencia fracción α (Eeq/ml)

La variable incluida en este modelo muestra indicios de significación estadística ($p=0,096$). De esta manera, las pacientes que no han estado embarazadas tienen una diferencia entre los niveles de la fracción α (Eeq/ml) en tejido adiposo abdominal y los niveles de la fracción α (Eeq/ml) en tejido adiposo mamario mayor que aquellas que sí estuvieron embarazadas.

4.5.2.10. Análisis multivariante para la diferencia de los niveles de la fracción α en tejido adiposo y abdominal (Eeq/gr)

Se incluye en este modelo la variable independiente *ha estado embarazada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=3,61$ (1;14) g.l. y una $p=0,078$ que indica que esta variable está asociada con la variable diferencia entre los niveles de la fracción α (Eeq/gr) en tejido adiposo abdominal y los niveles de la fracción α (Eeq/gr) en tejido adiposo mamario. La variable presente en el modelo da un coeficiente de determinación, $R^2=0,205$. Es decir, la variable *ha estado embarazada* puede explicar en torno a un 20% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-2146,551	1550,663	-1,384	0,188
Ha estado embarazada	2515,742	1322,410	1,902	0,078

Diferencia fracción α (Eeq/gr)

La variable incluida en este modelo muestra indicios de significación estadística ($p=0,078$). De esta manera, las pacientes que no han estado embarazadas tienen una diferencia entre los niveles de la fracción α (Eeq/gr) en tejido adiposo abdominal y los niveles de la fracción α (Eeq/gr) en tejido adiposo mamario mayor que aquellas que sí estuvieron embarazadas.

4.5.2.11. Análisis multivariante para la diferencia entre el porcentaje lipídico en tejido adiposo abdominal y el porcentaje lipídico en tejido adiposo mamario

Para la variable *diferencia en el porcentaje lipídico*, se consideran en el modelo las variables *estadio tumoral*, *ha aplicado insecticidas de forma continuada*, *ha estado embarazada* y *tratamiento quirúrgico*. Hecho el test global para las variables presentes en el modelo se obtuvo una $F_{exp}=3,88$ (4;24) g.l. y una $p=0,014$, lo que nos indica que hay indicios de que, al menos una de las variables, está asociada con la variable dependiente lo que nos llevará a ver cuál o cuáles de ellas estarán asociadas. Las variables presentes en el modelo dan un coeficiente de determinación, $R^2=0,393$, lo que significa que son capaces de explicar en torno a un 40% de la variabilidad de la variable dependiente.

El modelo ajustado aparece en la siguiente tabla:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-40,992	20,827	-1,968	0,061
Ha estado embarazada	-7,153	6,180	-1,157	0,258
Ha aplicado de forma continua insecticidas	17,506	8,596	2,037	0,053
Tratamiento Quirúrgico	-7,077	4,114	-1,720	0,098
Estadio tumoral	16,817	5,872	2,864	0,009

Como se ve en la tabla, una vez que se controla por las otras variables presentes en el modelo, la variable *estadio tumoral* presenta significación estadística, $p=0,009$. Además existen indicios de significación estadística para *aplicación continuada de insecticidas* y *tratamiento quirúrgico* ($p=0,053$ y $p=0,098$). De esta forma, las mujeres que no han aplicado insecticidas de forma continuada tienen una diferencia en el porcentaje lipídico entre grasa abdominal y mamaria mayor que aquellas que sí han usado insecticidas. En el mismo sentido, las pacientes con enfermedad tumoral en estadios precoces tienen también una diferencia en el porcentaje lipídico en grasa abdominal y mamaria más alto que aquellas con enfermedad avanzada. Sin embargo, las participantes que reciben tratamiento mediante mastectomía tienen una diferencia en el porcentaje lipídico menor que aquellas con tumorectomía.

4.5.2.12. Análisis multivariante para la diferencia entre los niveles de la fracción β en tejido adiposo abdominal (Eeq/ml) y los niveles en tejido adiposo mamario (Eeq/ml)

Se incluye en este modelo la variable independiente *ha aplicado insecticidas de forma continuada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=0,07$ (1;31) g.l. y una $p=0,782$, lo que indica que esta variable no está asociada con la variable *diferencia entre los niveles de la fracción β (Eeq/ml) en tejido adiposo abdominal y los niveles de la fracción β (Eeq/ml) en tejido adiposo mamario*.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-125,026	912,055	-0,137	0,892
Ha aplicado de forma continua insecticidas	131,726	472,417	0,279	0,782

Diferencia fracción β (Eeq/ml)

4.5.2.13. Análisis multivariante para la diferencia entre los niveles de la fracción β en tejido adiposo abdominal (Eeq/gr) y los niveles en tejido adiposo mamario (Eeq/gr)

Por último, se incluye en este modelo la variable independiente *ha aplicado insecticidas de forma continuada*. Se realizó el test global y se obtuvo una $F_{exp}=0,04$ (1;31) g.l. y una $p=0,832$, lo que indica que esta variable no está asociada con la variable *diferencia entre los niveles de la fracción β (Eeq/gr) en tejido adiposo abdominal y los niveles de la fracción β (Eeq/gr) en tejido adiposo mamario*.

El modelo ajustado aparece en la tabla siguiente:

	Coeficientes		t	Sig.
	B	Error típico		
Constante	-177,518	1735,893	-0,102	0,919
Ha aplicado de forma continua insecticidas	192,004	899,140	0,214	0,832

Diferencia fracción β (Eeq/gr)

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Este trabajo se planeó con objeto de investigar si la cuantificación del residuo de un pesticida organoclorado: 1.- efectuada con una metodología mixta química y biológica moderna y precisa, 2.- en una muestra de sangre o de tejido adiposo, 3.- tomada en un punto particular de la anatomía de un individuo (vena ante-cubital, tejido adiposo mamario o tejido adiposo abdominal), y 4.- en un momento preciso de la vida del individuo (al tiempo del diagnóstico clínico y transcurridos tres meses de éste), es un buen indicador de la exposición humana a compuestos químicos medioambientales y puede ser utilizado como marcador de exposición en estudios epidemiológicos.

Como puede entreverse en las páginas de este trabajo, tan pretenciosos eran los objetivos como simplista la aproximación habitual que se ha utilizado de forma rutinaria en la mayoría de los diseños epidemiológicos que investigan exposición humana a compuestos organoclorados y riesgo de cáncer de mama (Snedeker, 2001). Se ha asumido de forma habitual y con excesiva ligereza que las circunstancias enumeradas anteriormente, son de poca importancia y se ha optado de forma empírica por unas u otras opciones, esperando que el supuesto elegido fuera válido para la estimación de la exposición. De hecho, trabajos de referencia obligada en Europa, como el de van't Veer y colaboradores, que investigan el riesgo de cáncer de mama para mujeres expuestas al pesticida DDT/DDE y que han servido de referencia para las conclusiones de la administración sanitaria en algunos países europeos, se limita a la medida puntual de un pesticida, en una muestra de tejido adiposo obtenido de la mama (casos), o de la zona glútea (controles), en el momento del diagnóstico de la enfermedad tumoral. A pesar de la simpleza metodológica y conceptual, se ha concluido, de forma audaz y pretenciosa, que no hay relación entre los compuestos organoclorados y el riesgo de cáncer de mama (van't Veer et al., 1997)

No es éste un hecho infrecuente. La mayor parte de los trabajos publicados hasta la fecha, excepto honrosas excepciones, son metodológicamente pobres y pueden haber fracasado por darse alguna o todas las circunstancias que se indican a continuación, referentes, en todos los casos, a una mala estimación de la exposición:

- Obtener las muestras biológicas de los pacientes en el momento del diagnóstico de la enfermedad tumoral y asumir que la medida en ese instante es indicativa de la exposición que ocurrió en las fases iniciales del proceso de carcinogénesis, posiblemente establecido años atrás. En algunos pocos casos, se han podido utilizar bancos de muestras de suero que se guardaban en condiciones de máxima seguridad y estabilidad y que habían sido obtenidas años antes de conocerse la enfermedad tumoral clínica.
- Emplear la cuantificación del compuesto químico en sangre (suero) circulante como reflejo de la bioacumulación en tejidos. A este respecto, se ha discutido hasta la saciedad si las medidas del residuo circulante en sangre, estimadas en suero y corregidas por el contenido lipídico de éste, son un buen indicativo de la carga corporal total, sin que por el momento haya un acuerdo total sobre este asunto, ya que la bioacumulación es dependiente de la lipofilicidad de los compuestos y la habilidad del organismo para metabolizarlos y de detoxificar, estableciéndose un equilibrio tejido-sangre no siempre bien conocido.
- Utilizar tejidos de diferente localización anatómica como fuente de información para medir la carga corporal total al compuesto bioacumulable, siempre bajo la premisa de que en los diseños de *casos y controles* es preferible obtener tejido no mamario de las pacientes utilizadas como *control* que utilizar la mama como fuente de información, a pesar de que en los *casos* sea la mama el tejido de elección. La razón aducida es que sería un sesgo de clasificación importante utilizar tejido mamario de los *controles* en los que, la patología benigna que los ha llevado a cirugía, podría ser un factor de importancia en la exposición particular de esas pacientes.
- Valerse de una medida puntual del residuo de un pesticida, estimada en un momento dado como un buen indicativo de la estimación de la exposición, sin tener en cuenta las fluctuaciones en los niveles del residuo químico que pueden estar condicionados por la movilidad de los compuestos lipofílicos bioacumulados que se rigen por conductas no bien identificadas.

- Asumir que es un buen indicativo de la exposición a un conjunto de compuestos químicos de características químicas o biológicas similares, la medida de uno solo de ellos, por factible, popular, sencillo o económico que esto sea. De hecho las listas oficiales y oficiosas de compuestos químicos de interés crecen día a día y rondan, en el caso particular de los compuestos con actividad hormonal (disruptores endocrinos), los seiscientos residuos. Como alternativa realista al proceso, se han definido biomarcadores de efecto que estudian el efecto conjunto de los extractos tisulares y asumen que el resultado es un indicativo más fiable de actividad que la identificación somera de algunos compuestos de supuesto interés.

Consideradas estas premisas, en el diseño de este trabajo se optó por explorar algunas de las posibilidades de forma conjunta, siempre con la sospecha de que la coincidencia de un conjunto de variables en un sistema tan complejo añadiría más dificultad al análisis, pero con la limitación ética del reclutamiento de pacientes, su consentimiento y el muestreo repetido no exento de iatrogenia. Así pues, se resolvió el diseño con el siguiente planteamiento:

- 1.- Cuantificando un número importante de residuos (que en este caso alcanza los dieciocho), considerando compuestos de interés, pesticidas organoclorados y sus metabolitos más importantes.
- 2.- Utilizando un biomarcador de efecto como la carga estrogénica total efectiva o TEXB de probada utilidad en cáncer de mama.
- 3.- Estimando de forma conjunta la exposición en sangre (suero) y en tejido adiposo.
- 4.- Empleando tejidos de diferente localización anatómica de la misma paciente, tejido mamario y subcutáneo abdominal.
- 5.- Efectuando las medidas en dos momentos en el tiempo, ciertamente próximos (90 días), pero con hitos de tratamiento sistémico, local y regional de posible repercusión.

La exposición humana a pesticidas organoclorados con actividad estrogénica, en particular, y a xenobióticos estrogénicos en el sentido más amplio del término, ha sido investigada por nuestro grupo con anterioridad a este trabajo en diferentes estudios con distintos objetivos, pero utilizando una metodología químico-analítica y biológica similar (Fernández, 2001; Ibarluzea, 2003; Cerrillo, 2003). Ya que esos estudios evaluaron y validaron la metodología, nos remitimos a ellos para justificar la validez del método.

A pesar de la antigüedad del interés por la exposición a pesticidas organoclorados, es cierto que siguen sin resolverse muchas de las hipótesis planteadas y el problema sigue pendiente de una buena aproximación metodológica y conceptual (Porta et al., 2002). Aunque en la actualidad hay un mayor control en el empleo de algunos pesticidas organoclorados en la agricultura, y varios fueron prohibidos hace años, los niveles de exposición de la población humana son tan importantes como en el pasado, debido, entre otras razones, a la elevada persistencia de estas moléculas, el transporte aéreo desde regiones donde se emplean, la contaminación en formulaciones autorizadas o su empleo fraudulento. El grado de impregnación humana es importante. La transmisión de estos productos en la cadena trófica es un riesgo de magnitud no definida, tal y como se muestra en algunos los publicados por nuestro grupo de investigación, que señalan la exposición del lactante a través de la leche materna (Campoy et al., 2001, Cerrillo et al., 2004) como un hecho habitual. La presencia demostrada de los compuestos organoclorados en la mama y en la secreción láctea sugiere un papel importante de estos compuestos en un tejido como el mamario tan vulnerable a los eventos carcinogénicos (Sonnenschein et al., 1995)

Se han establecido con carácter internacional niveles máximos de residuos de pesticidas en los productos de consumo (Comisión Europea, SANCO/397/01-Final, 2001). La regulación se establece de tal manera que la cantidad de residuo contenido en el alimento y la ingesta estimada del mismo alimento no suponga un riesgo significativo sobre la salud de la población expuesta. Bajo este criterio, se permiten cantidades determinadas de pesticidas organoclorados en los alimentos. No obstante, debido al uso abusivo de los pesticidas en unos casos, fraudulento en otros, se pueden encontrar cantidades significativas de residuos de pesticidas en los productos

alimentarios. En función del alimento y el tipo de molécula de la que se trate se han encontrado distintas concentraciones (OMS, 1991; Gunderson, 1995; Li et al., 1998; Porta et al., 2002). De esta manera la vía alimentaria se señala como la fuente principal de exposición humana. Se ha sugerido por expertos nacionales e internacionales (Porta et al., 2002), que es importante conocer el grado de exposición de las poblaciones con objeto de evaluar si las medidas de reducción del uso de compuestos químicos y de control de residuos en alimentos influyen significativamente en la exposición interna de los individuos y por tanto en el riesgo de enfermedad. A este respecto el binomio organoclorados y cáncer de mama ha sido el más estudiado (Snedeker, 2001) aunque no el único conjunto exposición y cáncer.

Como se indicaba previamente, en este estudio se han cuantificado dieciocho pesticidas organoclorados en tejido adiposo. Hasta ahora, en lo que se refiere a España, la mayoría de los trabajos consultados habían determinado un número reducido de pesticidas, generalmente DDT y sus metabolitos, junto con algunos PCBs, y en algunas ocasiones lindano, dieldrín, mirex o endosulfán (Ferrer et al., 1992; Gómez-Catalán et al., 1995; Porta et al., 2002). Las series de estudio en España han contado con un número escaso de individuos, ya que tan sólo Sala y colaboradores (1999) y Cerrillo (2004) analizan un número considerable de pacientes. Los pesticidas organoclorados y metabolitos que se seleccionaron para su análisis en el presente trabajo fueron o, p´DDT, p, p´DDT, p, p´DDE, p, p´DDD, metoxicloro, mirex, lindano, hexaclorobenceno, vinclozolina, aldrín, endrín y dieldrín, endosulfán I, endosulfán II, endosulfán-eter, endosulfán-lactona, endosulfán-diol y endosulfán-sulfato, debido a que:

- 1.- Se acumulan en tejido adiposo y leche materna.
- 2.- Estos compuestos o sus metabolitos pueden actuar como potenciales carcinógenos al poseer una alta afinidad por el ADN intracelular (Jobling et al., 1995; Paulozzi et al., 1997; Skakkebeak et al., 1998)
- 3.- Presentan actividad estrogénica, probado en ensayos *in vitro* e *in vivo* (Soto et al., 1995; Sohoni et al., 1998; Andersen et al., 1999; Botella Orts, 2000; Rivas et al., 2002)

Como se ha mencionado, esta serie de pesticidas organoclorados seleccionados tienen actividad hormonal estrogénica por lo que entran en la clasificación de xenoestrógenos. Dentro de dicha clasificación, estos pesticidas organoclorados se consideran como agonistas estrogénicos totales, como es el caso del o, p´ DDT, o agonistas estrogénicos parciales, en el resto de los casos, con una eficacia estrogénica con respecto a estradiol muy variable (Soto et al., 1995) Así por ejemplo, el lindano presenta un valor de eficacia estrogénica que apenas si alcanza el 30% de la atribuida al estrógeno natural, mientras que la eficacia del endosulfán supera el 65%. La potencia proliferativa en los ensayos *in vitro*, sirvió para ordenarlos en función de la concentración mínima a la que desencadenan un efecto estrogénico. Siguiendo este criterio son o, p´ DDD, p, p´ DDT, metoxicloro y endosulfán los pesticidas organoclorados más potentes. Sólo mirex, endosulfán sulfato y endosulfán lactona son inactivos en los ensayos de estrogenicidad, aunque el primero se ha encontrado asociado a una mayor frecuencia de enfermedades de carácter hormonal (Moysich, 1998). Además del efecto agonista estrogénico, se hace necesario recordar que ha sido igualmente descrita la interferencia con el sistema androgénico para algunos de los pesticidas considerados aquí, como es el caso del p, p´ DDE (Kelce, 1995), que, junto al fungicida vinclozolina y al herbicida linurón y procloraz, engrosan actualmente la lista de los antagonistas androgénicos. A este respecto, hay que recordar que, entre los compuestos investigados, el grupo del endosulfán y la vinclozolina tienen un uso actual bien reconocido en España (Botella et al., 2004; Cerrillo et al., 2004). El resto de los compuestos o bien están prohibidos o su empleo está muy restringido o limitado a aplicaciones muy concretas. Tal es el caso del lindano que está permitido en aplicaciones farmacológicas para combatir la sarna. A pesar de ello su empleo en agricultura ha sido posible hasta la fecha en regiones concretas de la península Ibérica, la Rioja por ejemplo (Olea, 1999). Diferente es el caso del DDT que aún aparece como contaminante en las formulaciones de dicofol, o del metoxicloro y el aldrín que se prescribe para actuaciones concretas a pesar de su prohibición (Dicofol, 2003)

En la mayoría de los trabajos publicados en cuanto a lo que se refiere a la determinación de compuestos organoclorados, la cuantificación se realiza en un solo compartimento sangre/suero o tejido. En este trabajo se eligió estudiar la exposición mediante la cuantificación de los pesticidas organoclorados en

sangre/suero y en tejido adiposo bajo la premisa conceptual de que la medida en sangre es un indicador del residuo circulante y accesible a cualquier órgano y que el tejido adiposo es reservorio de compuestos químicos liposolubles y bioacumulables y, por tanto, puede proporcionar información sobre la historia expositiva del sujeto sometido a estudio. Por otra parte, disponer, para la medida de los niveles de organoclorados en la población en estudio, de tejido adiposo de dos localizaciones diferentes en un mismo paciente es una situación no habitual y que puede proporcionar datos de gran interés. En ambos casos se acompañan de sus correspondientes medidas séricas por lo que la combinación suero/tejido adiposo y tejido adiposo abdominal/tejido adiposo mamario se completa con el binomio suero en momento de la intervención/suero a los tres meses, durante el seguimiento de la paciente. En todos los casos la primera muestra de tejido adiposo se obtuvo en la escisión mamaria motivo del tratamiento de la enfermedad tumoral maligna y la segunda se hizo en un plazo máximo de 90 días, por punción aspiración de grasa abdominal bajo anestesia local. Las variables tiempo y localización se confunden en este análisis y pueden complicar la extracción de conclusiones, por lo que en principio se considerarán los resultados de las medidas en sangre para evaluar el efecto del tiempo y las de tejido adiposo mamario/abdominal para investigar el efecto de la distribución corporal.

Todas las pacientes incluídas en el estudio fueron atendidas en el Hospital Clínico Universitario de Granada por padecer cáncer de mama, circunstancia que puede limitar las conclusiones generales del trabajo en lo que respecta a su aplicación a la población general, pero que es de indudable valor para el caso particular de los estudios de la enfermedad tumoral.

La estadística descriptiva de cada una de las variables consideradas en la encuesta epidemiológica, nos ha permitido hacer una aproximación a las características de la población de estudio con objeto de compararla con series establecidas por este mismo grupo de trabajo y establecer el grado de similitud entre esta serie reducida y otras más amplias, que si bien no tienen un diagnóstico clínico similar, sí que pueden coincidir en antecedentes y comportamiento biológico.

Atendiendo a las características sociodemográficas de las participantes en el estudio, podemos decir de forma resumida, que se trata de mujeres maduras,

de edad media 60 años, con una distribución en torno a dos picos de edad: 40% tienen en el momento del diagnóstico entre 50-55 años y un 31,4% tienen entre 65-70 años, casadas (63%) y de muy bajo nivel escolar (71,4% nivel inferior o igual a graduado escolar). Más de la mitad de las participantes se consideran rurales (54,3%) y han desarrollado trabajos agrícolas un 37,1%, lo que conllevaría a una exposición casi obligada a pesticidas. A pesar de ello, sólo un 8,5% afirma el uso de estos compuestos, ya que generalmente esta función la desempeña el cabeza de familia. La media del IMC (índice de masa corporal) de las pacientes, tanto al inicio del estudio (29,73) como el IMC a los tres meses (29,98), hace que se engloben en el grupo de sobrepeso (25-29,99), según la clasificación de la OMS. Además hay que destacar que un 17% de las mujeres confiesa ser fumadora habitual, un 17% exfumadora y un 66% declara no haber fumado nunca.

Las pacientes con mayor edad son las más rurales ($p=0,034$; $r=0,359$), las que tienen menor nivel educativo ($p<0,001$; $r=-0,647$) y mayor IMC al inicio del seguimiento ($p=0,027$; $r=0,374$). Además, las participantes con mayor porcentaje de ruralidad tienen también un menor nivel de escolaridad ($p=0,002$; $r=-0,504$). Y por otro lado, las mujeres con mayor IMC inicial tienen menor nivel educativo ($p=0,002$; $r=-0,505$). Es decir, las pacientes con menor nivel educativo son aquellas más mayores, más obesas y más rurales.

En cuanto a los antecedentes de vida reproductiva hemos constatado los siguientes datos: la edad media de la menarquia de estas mujeres fue de 13,10 años. La edad media de la menopausia se sitúa en torno a los 48 años y la edad media del primer hijo a término alrededor de 26,23 años. Un 68,57% de las pacientes han dado lactancia materna durante un tiempo medio de 14 meses.

Centrándonos en los antecedentes de patología mamaria, ya sea personal o familiar, se observa en esta serie de pacientes que la patología benigna de la mama no ha estado presente en el 94% de las enfermas y que tan sólo un 6% contaba con alteraciones fibroquísticas de la mama y tumores del estroma intralobulillar mamario (fibroadenoma...). Por otro lado, se ha confirmado que el 9% de las mujeres de nuestro trabajo han sido tratadas previamente por un cáncer de mama. Además, se aprecia en esta serie que, el cáncer de mama esporádico, es decir, aquel que se presenta en un individuo sin antecedentes familiares en dos o más generaciones, representa el 63%. Mientras que un 37%

de las enfermas presentaban en el momento del diagnóstico antecedentes familiares de cáncer de mama; en otras palabras, padecían cáncer de mama familiar.

Un aspecto importante para orientar la decisión clínica, es la adecuada clasificación tumoral en función de su extensión, etapa o estadio en que se encuentra la enfermedad tumoral. Esto tiene un importante valor pronóstico y permite decidir la estrategia terapéutica para cada paciente. Las pacientes de este trabajo se distribuyen en estadios de la siguiente forma: un 20% se encuentran en Estadio I, un 60% de las participantes en un Estadio II (34% Estadio IIA y 26% Estadio IIB) y un 20% de las mujeres en un Estadio III (9% Estadio IIIA y 11% Estadio IIIB).

Durante mucho tiempo el tratamiento locorregional se ha considerado exclusivamente quirúrgico. No obstante, el mejor conocimiento de la biología del tumor y los tratamientos adyuvantes, han planteado actitudes quirúrgicas menos agresivas, evitando intervenciones más mutilantes que no mejoran la supervivencia y que se complementan con otras opciones terapéuticas. Casi la mitad de las pacientes de este estudio (48%) han requerido mastectomía radical modificada según técnica de Madden, es decir, exéresis de la glándula mamaria afecta del tumor y del tejido linfograso axilar homolateral, respetando los músculos pectoral mayor y menor. A un 40% se les ha sometido extirpación del tejido glandular, aponeurosis del pectoral mayor y un segmento de piel que incluye un cuadrante de la glándula (cuadrantectomía) más linfadenectomía axilar homolateral. Por último, la tumorectomía o exéresis del nódulo o tumoración más disección axilar ha quedado reservada para un 12% del grupo.

El tratamiento quimioterápico neoadyuvante es aquel que se administra previamente a la intervención quirúrgica de un tumor, con el propósito principal de reducir la extensión de la cirugía. El 20% de las pacientes incluidas en este estudio han requerido este tipo de tratamiento. Todas ellas lo han hecho en régimen Flexi-FAC con 3 ciclos salvo una paciente que ha recibido 4 ciclos. Con posterioridad fueron intervenidas quirúrgicamente y se completó el tratamiento con la administración de 3 ó 4 ciclos de FAC y radioterapia postoperatoria. Hay que decir que la mayoría de las pacientes a las que se suministraron drogas antineoplásicas antes de la intervención quirúrgica, se encontraban en un Estadio IIB (57,14%).

El tratamiento complementario o adyuvante del cáncer de mama es aquel que se administra después del tratamiento quirúrgico con el fin de destruir o impedir el crecimiento de las micrometástasis, cuya existencia se supone, pero no se puede demostrar en el momento de la cirugía. Si atendemos a la serie global de pacientes, se observa que el 80% de ellas recibieron tratamiento adyuvante, pero hay que tener en cuenta que dentro de este grupo se incluyen las 7 que recibieron neoadyuvancia.

Tras la mastectomía, la radioterapia se administra en pacientes consideradas de alto riesgo, ya que disminuye la recidiva locorregional, incluso entre las que reciben quimioterapia y aumenta la supervivencia global. El 88,57% de las pacientes participantes en el estudio han recibido radioterapia postoperatoria tras la cirugía para completar el tratamiento de la patología mamaria maligna.

Los pesticidas organoclorados identificados en las distintas muestras analizadas presentan una concentración variable desde niveles situados por debajo del límite de detección y cuantificación del residuo, lo que sucede en la mitad de los casos de algunos metabolitos del endosulfán en suero, hasta valores del orden de 1 $\mu\text{g/g}$ grasa como ocurre para el conjunto de los endosulfanes. En general, se ha descrito frecuentemente que los niveles de contaminantes lipofílicos son cerca de 10 veces más elevados en tejido adiposo que en leche y 100 a 350 veces más altos en tejido adiposo que en sangre, razón que añade interés a que el tejido adiposo sea el compartimento de elección para la medida de estos productos, ya que incluso pequeñas muestras de tejido adiposo (inferiores a 200mg) tendrán compuestos organoclorados en un rango detectable (Aronson, 2000). Laden afirma en uno de sus trabajos publicados en el año 2001 (Laden et al., 2001), que cuando los niveles de este tipo de compuestos se determinan en suero es conveniente hacer el correspondiente ajuste de lípidos para minimizar la variabilidad intra-individual y para aproximarse mejor a la concentración del pesticida en tejidos. Lo cierto es que no siempre se encuentra una buena relación entre las medidas efectuadas en ambos compartimentos (tejido adiposo y sangre), por lo que las extrapolaciones entre estudios epidemiológicos que utilizan diferentes sustratos son difícilmente comparables. Nuestros resultados son concluyentes a este respecto: Para aquellos pesticidas organoclorados de conocida y documentada lipofilicidad (DDT y derivados, aldrín/dieldrín/endrín y HCB), la corrección de las concentraciones

séricas por el contenido graso del suero iguala de forma precisa los datos numéricos de suero con los de tejido adiposo mamario y abdominal. No ocurre así para aquellos que tienen un componente hidrofílico importante como es el caso de algunos metabolitos del endosulfán. En este caso particular, la expresión de las concentraciones en suero por el contenido lipídico resulta en un sobrestimación llamativa de las mismas.

Es importante resaltar el gran beneficio encontrado en la transformación de la concentración de cada residuo medido en volumen de suero (ml) al expresarlo en función de la concentración de lípidos ya que los resultados se hacen más fácilmente comparables con las medidas del tejido adiposo. Por esta razón no es de extrañar que, por ejemplo, las medias y medianas de la suma de DDE (para valores por encima del límite de cuantificación) sean tan parecidos 538,33 y 453,55 ng/g de lípido, respectivamente, en sangre y 571,11 y 506,54 ng/g de lípido, respectivamente, en tejido adiposo mamario. Lo mismo parece ocurrir para la cuantificación de la suma de DDE a los tres meses de la intervención quirúrgica cuando lo que se compara son las medias y medianas corregidas por el contenido lipídico del suero y los valores obtenidos en grasa abdominal (442,05 y 439,14 ng/g lípido frente a 437,43 y 401,52 ng/g de lípido). La aplicación de los tests estadísticos apropiados ha servido para confirmar que entre ambas parejas de datos existe una buena concordancia, cuando las medidas se efectúan en un mismo instante en el seguimiento de las pacientes, por ejemplo, inicio del tratamiento o tres meses en la evolución. Pero también sugieren que la disminución de los valores medios de DDE en tejido adiposo en el curso de la enfermedad es real, y por tanto que los valores medios al inicio del estudio son significativamente diferentes de los valores a los tres meses, habiéndose producido una movilización del residuo en el curso del tratamiento de las pacientes.

Para poder profundizar en estos hallazgos interesaría saber, para el caso particular del grupo de los DDTs, cuáles son los factores que han condicionado la exposición de las pacientes a este pesticida y cómo se comportan las diferentes variables que determinan la exposición. El DDT y compuestos afines fueron prohibidos en España en 1977. Sin embargo, la persistencia del o, p´DDT y del p, p´DDT se ha estimado en torno a los siete años en seres vivos y se han sugerido tiempos aún mayores para el metabolito p,

p´DDE, por lo que no sólo los productos de exposición sino también los metabolitos, deben ser considerados en todo tipo de estudios en los que se evalúen compuestos organoclorados. En este trabajo p, p´DDE fue el compuesto más frecuentemente cuantificado tanto en las muestras de suero como en las de tejido adiposo (100%) y también uno de los más abundantes (concentración media de 416,69 ng/g en grasa mamaria), lo cual coincide con observaciones hechas por otros autores, que encontraron una alta proporción de individuos con este residuo (Sala et al., 2001; Krauthacker, 1998; Stellman, 1998; Cerrillo et al, 2004; Ibarluzea, 2003). En este trabajo, el DDE tuvo mayor presencia en el número de muestras de tejido adiposo y en los niveles medios encontrados que el DDT, fenómeno que puede explicarse por la mayor lipofilicidad del metabolito y que se confirma por la igualdad de concentraciones cuando se comparan los valores de residuo en grasa corregidos por la concentración de lípidos circulantes. No se puede descartar, sin embargo, la exposición actual al compuesto comercial DDT. De hecho, son frecuentes los estudios, algunos de ellos hechos en España, que sugieren el empleo actual de este compuesto (Cerrillo et al., 2004)

La presencia de DDE en la totalidad de las muestras y en concentraciones superiores a las de otros plaguicidas o metabolitos es una constante en la gran mayoría de los estudios, tanto en los realizados con el objetivo de conocer el grado de contaminación e impregnación de tejidos biológicos por estas sustancias, como en los estudios epidemiológicos que además persiguen identificar efectos adversos en la salud.

Según diversos investigadores (Aalborg et al.,1995; Doong et al., 1999; Cerrillo et al., 2004), es interesante la relación que se puede establecer entre las concentraciones de DDT y su metabolito DDE. Dado que los compuestos predominantes en la formulación comercial del DDT son el p, p´ DDT y el o, p´ DDT, mientras que el metabolito lipofílico que tiende a acumularse en el organismo humano es el p, p´ DDE, los cocientes p, p´ DDE/o, p´ DDT y p, p´ DDE/p, p´DDT son utilizados para analizar la antigüedad de la exposición a DDT. De tal modo que valores altos en el cociente p, p´DDE/p, p´DDT indican una exposición crónica y antigua al pesticida. En este estudio dicha relación alcanzó un valor en torno a 12 para p, p´DDT y 37,71 para o, p´DDT, lo cual señala la escasa exposición actual al compuesto comercial, frente una mayor contribución de una exposición pasada. Así mismo, puede indicar que la

exposición actual se produce, fundamentalmente, al p, p´DDE y por vía alimentaria. El cociente DDE/DDT en las muestras biológicas es claramente diferente dependiendo de la región y de la fecha en que se tomaron dichas muestras. En las poblaciones estudiadas entre los años 1995 y 2000, el cociente DDE/DDT varió desde 48 en Finlandia hasta 19 en Korea, 7,2 en México y 3,6 en Jordania, reflejando el uso de DDT y el efecto de su prohibición. La mezcla comercial de DDT, caso de ser empleada, presenta cantidades variables de sus derivados, de tal forma que el p, p´DDT supone hasta un 77% del total e incluso se puede encontrar hasta un 4% del metabolito p, p´DDE. En definitiva, ya sea por el metabolismo del DDT, que se transforma en DDE, y sigue siendo una molécula lipofílica difícilmente biodegradable y queda por tanto almacenada en el tejido adiposo, ya sea por la participación de sus isómeros y metabolitos en la mezcla comercial, lo cierto es que la frecuencia de DDE en tejido adiposo es proporcionalmente más elevada y contribuye de forma significativa a los valores sumatorios de DDT en grasa y sangre.

Es interesante resaltar que la exposición tanto a DDT como a DDE se asocia con la edad de las pacientes, de tal manera que a mayor edad son mayores los niveles del pesticida de este grupo en su conjunto (suma de DDE) que se detecta en sangre, fenómeno que se confirma con alta significación estadística para el acúmulo del pesticida en tejido adiposo mamario.

El p, p´DDE es seguido por el hexaclorobenceno (HCB) que ha sido cuantificado en un 97,1% de las muestras de tejido adiposo, Lindano (94,3%), o, p´DDT, Metoxicloro, Endrín, Endosulfán α y Endosulfán diol (88,6%) y Dieldrín (80%). Las concentraciones medias, medidas también en tejido graso, de dichas sustancias han sido las siguientes: HCB: 176,23 ng/g, Lindano: 35,67 ng/g, o, p´DDT: 11,05 ng/g, Metoxicloro: 24,01 ng/g, Endrín: 62,05 ng/g, Endosulfán α : 20,35 ng/g, Endosulfán diol: 59,12 ng/g, Dieldrín: 24,66 ng/g.

De nuevo, como se había tenido ocasión de ver en trabajos anteriores del mismo grupo, cuanto mayor es el porcentaje de ruralidad mayores son los niveles de dieldrín medidos en suero al inicio del estudio corregidos por el contenido lipídico ($p=0,022$; $r=0,626$) y también son mayores los niveles de HCB en grasa mamaria ($p=0,025$; $r=0,378$). En el mismo sentido, las pacientes que realizan o han realizado trabajos agrícolas tienen niveles más altos en grasa mamaria de HCB. Aquellas que han empleado insecticidas/pesticidas de forma

habitual tienen menor nivel de Aldrín ($p=0,092$) medido en sangre (ng/g lípido) al inicio del seguimiento y también menor concentración de p, p´DDT ($p=0,051$) y mayor concentración de HCB ($p=0,068$) en tejido adiposo mamario, esto último confirmado en el análisis multivariante. Se observa también que cuanto menor es el nivel educativo de las mujeres participantes en el estudio, mayor es el nivel de DDE ($p=0,078$), Σ DDT ($p=0,075$) y Lindano ($p=0,060$) en suero al inicio del estudio (ng/g de lípido) y de la misma manera mayores los niveles de DDE ($p=0,001$; $r=-0,528$), Σ DDT ($p=0,006$; $r=-0,453$) y HCB ($p<0,001$; $r=-0,640$) medidos en grasa mamaria. Las pacientes con un mayor IMC tienen niveles más altos en sangre, corregidos por la carga lipídica (ng/g grasa), de Σ DDT ($p=0,024$; $r=0,544$) y de DDE ($p=0,001$; $r=0,552$), Σ DDT ($p=0,005$; $r=0,462$) y HCB ($p=0,002$; $r=0,512$) en grasa mamaria. Por último, y en el mismo sentido que los trabajos precedentes de nuestro grupo de trabajo, se observa de forma paradójica que cuanto mayor es el número de meses de lactancia materna, mayores son los niveles de Endrín ($p=0,075$), Dieldrín ($p=0,078$), DDE ($p=0,034$; $r=0,521$) y Lindano ($p=0,034$; $r=0,640$) en sangre al inicio del estudio (ng/g).

Estudios epidemiológicos que han medido concentración de organoclorados en grasa ya sea de origen mamario, abdominal o glúteo, sugieren que el contenido de pesticidas organoclorados en grasa humana es idéntico e independiente del sitio de extracción de la muestra (Kohlmeier, 1995; van' t Veer, 1997; Petreas et al., 2004). Por esta razón sería de gran interés encontrar una explicación para la caída observada en los niveles del sumatorio DDT/DDE en el curso del tratamiento, e identificar si esa caída es debida a diferencias en los niveles estimados para tejidos adiposos de distinto origen (mamario y abdominal) o está ligada a las maniobras terapéuticas o la evolución de la enfermedad en el curso del seguimiento. Por motivos éticos no se programó la biopsia abdominal al tiempo de la cirugía mamaria, si no en el curso del tratamiento postquirúrgico, dentro de los tres meses de seguimiento. En principio, la similitud en las variables que explican las concentraciones de los residuos en mama y abdomen podría ser considerado un buen punto de partida.

En primer lugar, una explicación mecanicista del fenómeno incluiría la consideración de una movilización grasa en el curso del tratamiento que arrastrara los residuos depositados en el tejido. Esa movilización grasa podría

acompañarse de una variación ponderal, pero éste es un fenómeno que no ha ocurrido en nuestra serie, al menos en el periodo de observación clínica que nos concierne.

En segundo lugar, el tipo de tratamiento al que son sometidas las pacientes podría explicar la lipólisis y la movilización de residuos. A este respecto es interesante hacer notar la diferencia existente entre los valores medios de DDT/DDE en grasa mamaria en las pacientes que fueron sometidas a tratamiento quimioterápico antineoplásico prequirúrgico (278,97 ng/g) que es sensiblemente mas bajo y significativamente distinto de los valores medios de las que no fueron tratadas con anterioridad a la cirugía (644,14 ng/g). Se plantea así la posibilidad de que el tratamiento sistémico se acompañe de una caída de los niveles de residuo, sea o no causa de este fenómeno.

Igualmente la significación estadística de las diferencias de comportamiento en la variación de los niveles medios de residuos entre tejido graso abdominal y tejido graso mamario para las pacientes (D, diferencias) que fueron sometidas a tratamiento quimioterápico preoperatorio o postoperatorio podría servir de orientación en la hipótesis planteada. En el caso particular del tratamiento preoperatorio, aquellas pacientes que fueron tratadas experimentaron una caída de valor medio de 64,68 ng/g de DDT/DDE, mientras que en las pacientes sin tratamiento se observó un alza estadísticamente significativa de 183,27 ng/g en el residuo cuantificado. Cuando lo que se consideró fue la quimioterapia postoperatoria es importante advertir que ésta no comenzó nunca antes de los 30 días post tratamiento y que por lo tanto tiene un tiempo de efecto sobre la cuantificación del residuo menor que la quimioterapia preoperatoria. En este caso particular, no se observaron diferencias significativas en los valores medios entre las pacientes tratadas y no tratadas, aunque la caída media fue importante.

La conversión de los pesticidas en sus metabolitos podría explicar, en determinadas ocasiones, la presencia de uno u otro derivado como es el caso de DDT/DDE y también de aldrín, dieldrín y endrín y, por supuesto, de endosulfán I y II y sus metabolitos. En el caso particular del primer grupo de pesticidas la frecuencia de aparición sigue el orden aldrín, dieldrín y endrín en suero, tanto en el momento de inclusión de las enfermas en el estudio como a los tres meses en el curso del seguimiento. En tejido adiposo se alcanza en compartimento

abdominal y mamario el 100% de positividades. La concentración media mayor se alcanzó siempre para el endrín, observación que coincide con series más amplias previamente publicadas y que podría estar relacionada con la transformación entre metabolitos y compuestos comerciales.

El interés por el grupo aldrín/dieldrín/endrín radica en las observaciones previas presentadas por Hoyer (2002) e Ibarluzea (2004) que sugieren un efecto adverso en la supervivencia general y por cáncer de mama para aldrín y dieldrín en la identificación de factores de riesgo en cáncer de mama. En este trabajo la exposición a esta familia de compuestos se relacionó con la exposición a DDE, sugiriendo que las actividades profesionales o fuentes de exposición han sido comunes para ambos grupos de pesticidas. De hecho, al igual que ocurría para DDE, se ha encontrado un mayor nivel de dieldrín en suero en las pacientes de mayor edad ($p=0,058$), con mayor número de hijos ($p=0,009$), con mayor número de meses de lactancia ($p=0,078$) y con mayor porcentaje de ruralidad ($p=0,022$). En sentido contrario, las pacientes que declaran el uso continuado de insecticidas presentan menor concentración de aldrín en suero corregida por el contenido lipídico ($p=0,092$).

Respecto al endrín, las participantes en el estudio con enfermedad avanzada, es decir, mayor estadio tumoral ($p=0,080$; $r=-0,331$) y aquellas que reciben tratamiento antineoplásico preoperatorio ($p=0,014$) tienen niveles más bajos de este pesticida medidos en grasa mamaria. Sin embargo, los niveles en sangre (ng/g) de endrín son más altos en pacientes con mayor número de meses de lactancia ($p=0,075$).

Se trata pues de una exposición relacionada con la actividad laboral y con un comportamiento paradójico en lo que sería de esperar en lo referente al aclaramiento producido por embarazos y lactancia y sin aparente relación con la obesidad.

La lactancia se considera desde hace años como el método más importante de eliminación de organoclorados bioacumulados (Ahlborg, 1995). En este trabajo no se ha obtenido una asociación inversa entre meses de lactancia y menores niveles medios en tejido adiposo, pero es importante tener en mente que con frecuencia los niveles detectados en leche materna se han asociado inversamente con la duración de la lactancia (Skaare, 1990). Esto justifica la preocupación acerca de la transmisión de organoclorados a la leche

que alimenta al bebe y la necesidad de alertar a las madres sobre la potencial ingesta de comida contaminada (Furberg, 2002). Sería de esperar que las pacientes que refieren mayor número de embarazos y un mayor número de meses acumulados de lactancia presentaran concentraciones séricas de los pesticidas bioacumulables menores, debido a la limpieza que produce ambas funciones. Sin embargo, ni en esta serie ni en las series previas nuestras ha sido posible ponerlo de manifiesto siendo la asociación de sentido contrario, esto es, más embarazos y más lactancia significa mayores niveles de este grupo de pesticidas. Quizás sirva de explicación, a esta paradoja, la observación de que las pacientes con mayor porcentaje de ruralidad tienen un nivel de escolaridad más bajo y a su vez son de mayor edad, más obesas, han tenido un mayor número de hijos y en consecuencia declaran más meses de lactancia. No obstante, el análisis multivariante para los niveles del sumatorio de DDT/DDE viene a aclarar algo más la situación y sugiere que son lactancia materna y quimioterapia preoperatoria los dos condicionantes de la concentración de la Σ DDT en el tejido adiposo mamario, de forma que las pacientes que no dieron lactancia materna tienen niveles medios más altos de Σ DDT en dicho tejido que aquellas que sí la dieron; en el mismo sentido las participantes que no recibieron tratamiento antineoplásico sistémico preoperatorio cuentan también con una concentración media de Σ DDT en grasa mamaria más alta que aquellas sometidas al tratamiento neoadyuvante, extremos que son coincidentes y se ven confirmados para otros pesticidas del grupo de DDT y de aldrín/dieldrín/endrín. Así por ejemplo, la lactancia condiciona las menores concentraciones de o, p´DDT, p, p´DDE, y dieldrín, mientras que la quimioterapia preoperatoria se asocia con la limpieza del residuo de endrín, una vez que se ha controlado por el resto de variables.

Podría parecer que la serie de pesticidas organoclorados tiene un comportamiento similar a lo descrito para el grupo DDT/DDE y aldrín/endrín/dieldrín, pero no es así. En ocasiones el comportamiento es contrario. Tal es caso del endosulfán, un pesticida organoclorado que ocupa, hoy día, el primer lugar en consumo en los países industrializados. A diferencia de lo que ocurre con otros pesticidas históricos, prohibidos en su mayoría, su uso es frecuente y su empleo en áreas de agricultura intensiva en España es una práctica habitual, por lo que no cabe duda de que se trata de una de las exposiciones a pesticidas de mayor

interés en nuestro ámbito de estudio (Olea et al., 1996; Olea et al., 1999; Cerrillo et al., 2004). La exposición a endosulfán está definida por una mezcla de isómeros y metabolitos cuya proporción varía dependiendo del medio biológico que se analice; la mezcla comercial está formada por los isómeros α (I) y β (II) con un 70% del primero frente a un 30% del segundo.

Endosulfán y sus metabolitos, se encontraron en cerca del 90% del total de las muestras analizadas, con una frecuencia mayor para el isómero I (endosulfán α) que para el II (endosulfán β) cuando se trata de suero, y con una frecuencia similar y próxima al 100% en el caso del tejido adiposo ya sea mamario o abdominal. Los metabolitos de endosulfán investigados se encontraron, no obstante, en una proporción variable dependiendo del medio que se trate (suero/grasa), fenómeno de interés ya que de acuerdo con el proceso metabólico del endosulfán, estos metabolitos se distribuyen según su lipofilidad. El endosulfán I es más persistente que el endosulfán II, de modo que se estima una persistencia media del primero de hasta 800 días frente a 60 días del isómero II, posiblemente por una degradación aeróbica del endosulfán II hasta su isómero I (Doong, 1999). El metabolismo en seres superiores supone su transformación hacia las formas más hidrosolubles; el metabolito principal sería el endosulfán sulfato, pero una segunda vía de interés es su transformación en endosulfán éter, que está en equilibrio con endosulfán diol. Lo cierto es que, debido a su alta lipofilidad, todas estas formas se almacenan en tejido adiposo. Además, parte de la bibliografía consultada ha puesto de manifiesto la excreción de algunos de estos metabolitos en la fracción grasa de la leche de los mamíferos (Campoy et al., 2001; Waliszewski et al., 2003; Pardo et al., 2003) y su presencia se ha constatado en el suero y la orina de individuos expuestos.

Los resultados obtenidos en la medida de exposición de endosulfán son de un interés particular, no sólo por la primicia de los resultados, sino por la evidencia de un comportamiento tan dispar con respecto a los organoclorados hasta el momento descritos. De una parte porque los 4,23 y 2,52 ng/ml descritos para la suma de endosulfanes en suero al comienzo del estudio y transcurridos los tres meses de seguimiento, se transforman en 816,27 y 469,08 ng/g de lípido al corregir por la fracción lipídica del suero, lo que sitúa a este grupo en las cotas más altas de exposición dentro de la serie de organoclorados. No obstante, la comparación de los niveles en tejido adiposo (123,16 y 98,51 ng/g para mama y

abdomen, respectivamente) con el grupo DDT/DDE viene a confirmar la supremacía de estos últimos. Por otra parte, no se ha encontrado relación entre las variables que condicionan la exposición a DDT/DDE y endosulfán, de tal manera que actividad laboral, escolaridad, ruralidad, uso de insecticidas o número de embarazos, son incapaces de predecir la exposición a endosulfán. Además, la quimioterapia preoperatoria de tanto interés en aquellos residuos, parece no tener importancia en este caso. Destacar, únicamente como dato relevante respecto a endosulfán, que cuanto más avanzada es la enfermedad tumoral mamaria (estadio tumoral) mayores son los niveles, medidos en sangre al inicio del estudio y corregidos por carga lipídica, de Σ endosulfán ($p=0,007$; $r=0,731$). Sin embargo observamos que aquellas pacientes que son tratadas mediante tumorectomía más vaciamiento axilar tienen también niveles más altos de Σ endosulfán frente a aquellas que son sometidas a cuadrantectomía o mastectomía ($p=0,016$).

Estos resultados confirman estudios previos de nuestro grupo (Botella et al., 2004; Cerrillo et al., 2004) que asociaban la exposición a endosulfán con el mayor nivel socio-económico, el hábitat urbano y ciertos alimentos de la dieta. Por otra parte, los tres meses de evolución de las pacientes parecen tener un efecto dispar en las concentraciones medias de este pesticida en sangre, no observándose en ninguno de los casos una evolución clara en sentido ascendente o descendente. Tan sólo parecen verse afectados los valores medios de endosulfán I en tejido adiposo que son significativamente más bajos (20,35 a 15,33 ng/g) transcurridos los tres meses de seguimiento.

En cuanto al grupo formado por los pesticidas HCB, lindano, metoxicloro, vinclozolina y mirex es de interés reseñar que este último es el menos frecuente en toda la serie, ya sea en suero o en tejido adiposo, mientras que HCB ocupa el primer lugar y llega a alcanzar el 100% de las muestras de tejido adiposo. No es de extrañar tampoco que dada su gran lipofiliidad, el ratio grasa/suero se desplace hacia el componente tisular y se alcancen concentraciones en tejido adiposo que superan a las concentraciones de compuesto circulante. Este comportamiento similar a los pesticidas organoclorados históricos quizás sea la razón de su asociación, estadísticamente significativa con el residuo de DDT y DDE. De hecho lo que se ha tenido ocasión de observar en este trabajo para el residuo de HCB es un calco preciso de lo que ocurre con

DDT/DDE, esto es: su incremento en tejido adiposo mamario con la edad ($p < 0,001$; $r = 0,597$), con el IMC ($p = 0,002$; $r = 0,512$), con la ruralidad ($p = 0,025$; $r = 0,378$), con la baja escolaridad ($p < 0,001$; $r = -0,640$), con el trabajo agrícola ($p = 0,024$; $r = 0,061$) y con el uso de pesticidas ($p = 0,068$; $r = 0,264$), confirmada esta última asociación en el análisis multivariante.

Pero destaca especialmente el comportamiento que tiene HCB tan parecido a DDT/DDE en lo que se refiere al efecto de la quimioterapia sobre los niveles circulantes del pesticida y los valores medios en tejido adiposo. Quimioterapia antineoplásica preoperatoria y postoperatoria parecen influir negativamente en los valores de HCB en sangre, con valores medios de 101,99 y 186,40 ng/g de lípido y en tejido adiposo, de 102,27 y 194,71 ng/g en pacientes que han sido tratadas y no tratadas con quimioterapia antineoplásica, respectivamente y caen significativamente en 149,84 ng/g de media ($p = 0,020$) cuando se ha efectuado el tratamiento antineoplásico.

La información disponible para el fungicida vinclozolina no es muy abundante, por lo que la comparación de los datos presentados aquí y trabajos previos sobre este pesticida es casi imposible. Siete a nueve de cada diez pacientes presenta el residuo de vinclozolina cuantificable, ya sea en suero o en tejido adiposo.

Creemos, en definitiva, que el resultado más sorprendente y de mayor repercusión, en términos de salud, derivado de esta investigación, es el que hace referencia a la elevada exposición a pesticidas organoclorados de las muestras de grasa analizadas: El 100% de las mismas tenía al menos un pesticida en cantidad cuantificable y, el 69,4% de las muestras contenía tres o más pesticidas. Por otra parte, cualquier valor detectado distinto de cero debería ser considerado preocupante y, habida cuenta que una exposición tan elevada por parte de la población tendría, si se comprueban los efectos en la salud derivados de la acción combinada de estas sustancias, un impacto tremendo en el ámbito de la salud pública. Todo lo anterior debería conducirnos a la reflexión y al replanteamiento de posteriores investigaciones.

En este trabajo se ha utilizado la estimación de la carga estrogénica total efectiva (TEXB) como medida indirecta de la exposición a pesticidas organoclorados con efecto estrogénico, y de forma general, a aquellos compuestos químicos con actividad hormonal estrogénica, ya sea agonista o

antagonista. Se trata, como se ha comentado en la sección de introducción, del efecto combinado del extracto tisular (fracciones alfa y beta) que considera la capacidad de inducir proliferación en células estrógeno-dependientes de cáncer de mama. Los valores medios de TEXB para las fracciones alfa y beta, estimadas en tejido adiposo mamario, han sido 508,01 y 323,47 Eeq estradiol/g de lípido, valores que no difieren de los obtenidos por nuestro grupo en estudios previos centrados en cáncer de mama. No obstante, estos valores son aparentemente diferentes de los obtenidos a los tres meses de la intervención, en la muestra extraída de tejido adiposo abdominal (10,93 y 127,11 Eeq estradiol/g de lípido para las fracciones alfa y beta, respectivamente). La aplicación del test estadístico de Wilcoxon asigna una significación estadística próxima a la significación ($p=0,058$) tan sólo a las diferencias de medias de la fracción beta.

La caída en los valores medios de estrogenicidad pudiera ser debida a la evolución de la enfermedad tumoral y a las maniobras terapéuticas puestas en marcha tras el diagnóstico. No obstante, no es descartable *a priori* que las diferencias se deban a la distinta actividad estrogénica del extracto dependiendo de la diferente localización anatómica. Este asunto debe ser resuelto antes de enunciar ninguna conclusión definitiva. Para ello, se ha efectuado un análisis riguroso de los distintos factores que condicionan la exposición en ambos compartimentos tisulares.

La estrogenicidad de la fracción cromatográfica alfa disminuye significativamente cuanto mayor es la edad de las pacientes ($p=0,050$; $r=-0,423$), fenómeno que se observa también para la fracción beta, pero sin que se alcance la significación estadística. Es interesante considerar que si bien hay una explicación clara para la caída de la estrogenicidad en la fracción beta con la edad, que podría indicar un mayor alejamiento de la edad de establecimiento de la menopausia, y por tanto un menor nivel de estrógenos en el tejido adiposo, la explicación para la caída de la estrogenicidad de la fracción alfa no es tan sencilla y podría obedecer a otras causas, ya que no hay sospecha de elución de estrógenos endógenos en esta fracción y, por tanto, no parece estar sometida a la presencia de éstos. Por esta razón hay que recurrir a otros datos recogidos en la encuesta que pueden justificar este comportamiento, como es el número de hijos y los meses acumulados de lactancia que influyen negativa y significativamente en el aclaramiento de la estrogenicidad de la fracción alfa. En el análisis

multivariante, después de controlar por distintas variables, los embarazos siguen manteniendo su significación en cuanto a la disminución de la estrogenicidad. De manera que el embarazo supone una caída en la media tanto de la fracción α (Eeq/ml y Eeq/g) como de la fracción β (Eeq/ml, Eeq/g), indicando por tanto, un importante aclaramiento de xenoestrógenos a través de este mecanismo depurador, tan paradójico y tan preocupante. No es descartable que la obesidad influya en esta caída de la estrogenicidad ya que, un mayor IMC supone una caída en la fracción α expresada como Eeq/ml ($p=0,038$; $r=-0,444$) y expresada como Eeq/g ($p=0,033$; $r=-0,456$), y además conforme aumenta la edad también lo hace el IMC.

Cabe preguntarse sobre los compuestos químicos que son responsables de la estrogenicidad de la fracción alfa, pero la respuesta no es sencilla, en principio porque no hay relación entre la actividad estrogénica y la concentración de ningún pesticida, y en segundo lugar porque una mayor estrogenicidad de alfa se asocia con un mayor nivel escolar y decrece con la edad, los embarazos y con el IMC, circunstancias todas, que son opuestas a los factores de predicción de exposición a pesticidas organoclorados bioacumulables.

Por otra parte, las variaciones tan importantes en los niveles de estrogenicidad de la fracción alfa pudieran estar relacionadas con el efecto sobre el tejido de la quimioterapia antineoplásica, ya sea preoperatorio o postoperatoria, fenómeno observado que, sin embargo, no alcanza la significación estadística en lo referente a la fracción alfa, pero que es evidente para la caída de la estrogenicidad de la fracción beta que parece asociarse con la utilización de quimioterapia antineoplásica postoperatoria ($p=0,019$).

En definitiva, creemos que este trabajo responde a algunas de las preguntas planteadas en la sección de objetivos. Por una parte, orienta sobre la necesidad de hacer ciertas transformaciones numéricas de los datos de exposición a pesticidas organoclorados estimados en sangre/suero, que deben ser corregidos en función del contenido lipídico de la sangre. Por otra, separa muy claramente, el significado de exposición a xenoestrógenos, evaluada mediante el bioensayo TEXB, de la medida individualizada de residuos químicos, asignando a cada una de estas aproximaciones distintas, comportamientos y factores de predicción. Por último, llama la atención sobre el efecto que las medidas terapéuticas antineoplásicas de carácter sistémico parecen tener sobre

la estimación de la exposición. Estas indicaciones no son suficientes para diseñar un protocolo único de estimación de exposición, que tenga carácter universal y sea extrapolable a todas y cada una de las situaciones clínicas posibles, pero permite inferir ciertas recomendaciones de orden general que pueden ayudar a la estimación de exposición en los estudios epidemiológicos.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

El análisis pormenorizado de nuestros resultados y su discusión a la luz de las publicaciones y trabajos previos que investigan la exposición humana a xenoestrógenos, nos han permitido concluir que:

1. El estudio de la exposición a compuestos químicos bioacumulables en la población seleccionada (35 mujeres diagnosticadas y tratadas de cáncer de mama con edades comprendidas entre 40 y 79 años), demuestra que los niveles de pesticidas organoclorados tanto en sangre como en tejido adiposo son los esperados para la población en razón de su lugar de residencia y actividad laboral: Predominio en frecuencia de presentación y concentraciones medias para el grupo DDT, seguido de HCB, Lindano y aldrín/dieldrín y endrín, que confirma la bioacumulación de estos compuestos.
2. Los factores que condicionan la exposición a organoclorados, estimada ésta en tejido adiposo, son: edad, nivel educativo e índice de masa corporal y quimioterapia antineoplásica postoperatoria (DDTs y HCB), número de hijos a término (lindano), ruralidad, trabajo agrícola y uso de insecticidas (HCB), el estadio tumoral (Aldrín/dieldrín/endrín) y la quimioterapia antineoplásica preoperatoria (DDTs y Aldrín/dieldrín/endrín).
3. Los factores que condicionan la exposición a organoclorados, estimada ésta en sangre, son: edad, (DDTs y Aldrín/dieldrín/endrín), número de hijos a término y meses de lactancia (DDTs, aldrín/dieldrín/endrín y lindano), índice de masa corporal y quimioterapia antineoplásica postoperatoria (DDTs), ruralidad y uso de insecticidas (aldrín/dieldrín/endrín), el estadio tumoral (DDTs y endosulfán).
4. El análisis detallado de los valores de exposición --frecuencias y concentración-- a pesticidas organoclorados, para cada paciente individual, cuando se considera su presencia en tejido adiposo y en sangre, sugiere que tan sólo en aquellos casos en que la lipofilidad y bioacumulación está claramente demostrada (DDTs, dieldrín/endrín/aldrín y

HCB) es posible inferir la concentración tisular a partir de la sérica, una vez corregida ésta por la carga lipídica. De comprobarse esta buena correlación, la medida de exposición en sangre, una vez corregida por la carga lipídica, es un buen indicador de la exposición en tejido adiposo mamario peritumoral.

5. La estimación de la exposición a compuestos químicos con actividad estrogénica, cuantificada a través de la carga estrogénica total efectiva (TEXB) indica que la edad influye negativamente sobre el valor absoluto de TEXB de la fracción alfa -fracción que contiene los xenoestrógenos bioacumulables--, de tal manera que a mayor edad, menor carga estrogénica, asociación que podría ser el resultado del aclaramiento tisular ocurrido con los embarazos sucesivos. El papel del sobrepeso no es desdeñable, toda vez que la obesidad resulta en una caída significativa del nivel de exposición interna. Nuestros resultados sugieren que el biomarcador TEXB y la cuantificación individualizada de compuestos químicos ofrecen una distinta visión de la exposición humana a xenoestrógenos.

6. El tratamiento quimioterápico antineoplásico, tanto preoperatorio como postoperatorio, influye negativamente sobre el acúmulo de pesticidas organoclorados en el tejido adiposo mamario y abdominal. Tras el tratamiento antitumoral se observa una caída en los valores medios de DDTs y aldrín/dieldrín/endrín y HCB que no tiene una expresión clara en los niveles circulantes de estos compuestos químicos. Tejido adiposo mamario y abdominal parecen ser igualmente útiles para la estimación de la exposición, atribuyéndose las variaciones entre ambos substratos en el tiempo de seguimiento al tratamiento sistémico instaurado.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

Akins JR, Waldrep K, Bernert JT Jr. The estimation of total serum lipids by a completely enzymatic "summation" method. *Clin Chim Acta*. 184: 219-226 (1989)

Ahlborg UG, Lipworth L, Titus-Ernstoff L, Hsieh CC, Hanberg A, Baron J, Trichopoulos D, Adami HO. Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Crit Rev Toxicol*. 25: 463-531 (1995)

Andersen HR, Andersson AM, Arnold SF, Autrup H, Barfoed M, Beresford NA, Bjerregaard P, Christiansen LB, Gissel B, Hummel R, Grandjean P, Pérez P, Olea N. Comparison of short-term estrogenicity for identification of hormone-disrupting chemicals. *Environ Health Perspect* 107: 89-115 (1999)

Archibeque-Engle SL, Tessari JD, Winn DT, Keefe TJ, Nett TM, Zheng T. Comparison of organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast adipose tissue and serum. *J. Toxicol Environ Health*. 52: 285-293 (1997)

Armstrong K, Eisen A, Weber B. Assessing the risk of breast cancer. *New Engl J Med* 342: 564-571 (2000)

Arnold SF, Klotz DM, Collins BM, Vonier PM, Guillette LJ, McLachlan JA. Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* 272: 1489-1492 (1996)

Aronson K, Biller A, Woolcott C, Sterns E, McCready D, Lickley L, Fish E, Hiraki G, Holloway C, Ross T. Breast adipose tissue concentrations of polychlorinated biphenyls and other organochlorines and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 55-63 (2000)

- Barberá, C. Pesticidas Agrícolas. Ed. Omega. 4ª Edición. Barcelona (1989)
- Barnes S. Phytoestrogens and breast cancer. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 12: 559-579 (1998)
- Beatson GT. On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment, with illustrative cases. *Lancet.* 2: 104-107 (1896)
- Borgeest C, Greenfeld C, Tomic D, Flaws JA. The effects of endocrine disrupting chemicals on the ovary. *Front Biosci.* 1941-1948 (2002)
- Baris D, Kwak LW, Rothman N, Wilson W, Manns A, Tarone R E, Hartge P. Blood levels of organochlorines before and after chemotherapy among non-Hodgkin's lymphoma patients. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 9: 193-197 (2000)
- Botella Orts, B. Pesticidas organoclorados en mujeres afectas de cáncer de mama: Evaluación del efecto estrogénico. Tesis Doctoral. Universidad de Granada (1999)
- Botella BB, Crespo J, Rivas A, Cerrillo I, Olea Serrano MF, Olea N. Exposure of women to organochlorine pesticides in Southern Spain. *Environ Res.* 96(1): 34-40 (2004)
- Brinton I, Hoover R, Fraumeni J. Reproductive factors in etiology of breast cancer. *Br J Cancer* 47: 757 (1983)
- Brotos Oliver JA. Análisis químico y biológico (E-Screen) de contaminantes con actividad estrogénica. Tesis Doctoral. Universidad de Granada (1994)
- Brzezinski A, Debi A. Phytoestrogens: the "natural" selective estrogen receptor modulators? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 85: 47-51 (1999)

Bulger WH, Muccitelli RM, Kupfer D. Interactions of methoxychlor, methoxychlor base-soluble contaminant, and 2,2-bis(p-hydroxyphenyl)-1,1,1-trichloroethane with rat uterine estrogen receptor. *J Toxicol Environ Health*. 4(5-6):881-893 (1978)

Bulger WH, Kupfer D. Estrogenic action of DDT analogs. *Am J Ind Med*. 4: 163-173 (1996)

Cade J, Thomas E, Vail A. Case-control study of breast cancer in southeast England: nutritional factors. *J Epidemiol Community Health*. 52: 105-110 (1998)

Calero F. Factores de riesgo en el cáncer de mama. *Prog Obste Ginecol*. 42(S1): 51-74 (1999)

Campoy C, Jiménez M, Olea-Serrano MF, Moreno-Frias M, Cañabate F, Olea N, Bayés R, Molina-Font JA. Analisis of organochlorine pesticides in human milk: preliminary results. *Early Human Development*. 65(S): 183-190 (2001).

Carmichael AR, Bates T. Obesity and breast cancer: a review of the literature. *Breast*. 13(2): 85-92 (2004)

Carmichael AR, Bendall S, Lockerbie L, Prescott J, Bates T. Does obesity compromise survival in women with breast cancer? *Breast*. 13(2): 93-96 (2004)

Carson R. *Silent Spring*. Houghton Mifflin Company (1962)

Cerrillo I. Exposición de la mujer a compuestos tóxicos persistentes bioacumulables en el sureste peninsular. Tesis doctoral. Universidad de Granada (2003)

Cerrillo I, Granada A, López-Espinosa MJ, Olmos B, Jiménez M, Caño A, Olea N, Olea-Serrano MF. Endosulfan and its metabolites in fertile women, placenta, cord blood, and human milk. *Environmental Research*, (2004)

Chang Y, Zhu XQ, Zhu HJ, Zheng YF, Huang XS. Assessment of the estrogenicity of endosulfan and other chemicals with the in vitro proliferation of human breast cancer cell. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* 31(4): 281-283 (2002)

Charlier C, Desai Cl, Plomteux G. Human exposure to endocrine disrupters: consequences of gastroplasty on plasma concentration of toxic pollutants. *International Journal of Obesity.* 26: 1465-1468 (2002)

Charlier C, Albert A, Herman P, Hamoir E, Gaspard U, Meurisse M, Plomteux G. Breast cancer and serum organochlorine residues. *Occup Environ Med.* 60: 348-351 (2003)

Chevrier J, Dewailly E, Ayotte P, Mauriege P, Despres JP, Tremblay A. Body weight loss increases plasma and adipose tissue concentrations of potentially toxic pollutants in obese individuals. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 24(10): 1272-1278 (2000)

Clearly MP, Maihle NJ. The role of body mass index in the relative risk of developing premenopausal versus postmenopausal breast cancer. *Proc Soc Exp Biol Med.* 219(1): 28-43 (1997)

Clemons M, Goss P. Estrogen and the risk of breast cancer. *New England Journal Medicine.* 344(4): 276-285 (2001)

Col NF, Pauker SG, Goldberg RJ. Individualizing therapy to prevent long-term consequences of estrogen deficiency in postmenopausal women. *Arch Intern Med.* 159: 1458-1466 (1999)

Colborn T, Clement C. Chemically induced alteration in sexual and functional development: the wildlife/human connection. *Advances in Modern Environmental Toxicology* 11. Pricetown: Pricetown Scientific Publishers (1992)

Colborn T, vom Saal FS, Soto AM. Development effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect.* 101: 378-384 (1993)

Colditz GA, Hankinson SE, Henter DJ, Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ, Hennekens C, Rosner B, Speizer FE. The use of estrogens and progestins and the risk of breast cancer in postmenopausal women. *N Engl J Med.* 332(24): 1589-1593 (1995)

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormonal contraceptives. *Contraception.* 54: Suppl: 1S-106S (1996a)

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormonal contraceptives: collaborative reanalysis of individual data on 53.297 women with breast cancer and 100.239 women without breast cancer from 54 epidemiological studies. *Lancet.* 347: 1713-1727 (1996b)

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52705 women with breast cancer and 108411 women without breast cancer. *Lancet.* 350: 1047-1059 (1997)

Cummings AM, Metcalf JL. Mechanisms of the stimulation of rat uterine peroxidase activity by methoxychlor. *Reprod Toxicol.* 8(6):477-486 (1994)

Cummings AM, Metcalf JL. Effects of estrogen, progesterone, and methoxychlor on surgically induced endometriosis in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 27(2):287-290 (1995)

Cummings AM. Methoxychlor as a model for environmental estrogens. *Crit Rev Toxicol.* 27(4):367-379 (1997)

Davis DL, Bradlow HL, Wolf M, Woodruff T, Hoel DG, Anton-Culver H. Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect.* 101: 372-377 (1993)

Davis DL, Axelrod D, Osborne MP, Telang NT. Environmental influences on breast cancer risk. *Sci Med.* 56-63 (1997)

Derache J. *Toxicología y seguridad de los alimentos.* Ed. Omega S.A.Barcelona. (1990)

Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. Risk and aggressiveness of breast cancer in relation to plasma organochlorine concentration. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 9: 161-166 (2000)

Dewailly E, Dodin S, Verreault R, Ayotte P, Sauvé L, Morin J, Brisson J. High organochlorine body burden in women with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 86: 232-234 (1994)

Dich JF, Zahm SH, Hanberg A, Adami HO. Pesticides and cancer. *Cancer Causes Control.* 8(3): 420-443 (1997)

Dicofol. Dossier prepared for the meeting. March 17-19 in Norway of the UNECE Ad-hoc Expert Group on POPs, Checked by EJ van de Plassche, Project number 4L0002.A1 (2003)

Dorgan JF, Brock JW, Rothman N, Needham LL, Miller R, Stephenson HE, Schussler N, Taylor PR. Serum organochlorine pesticides and PCBs and breast cancer risk: results from a prospective analysis (USA). *Cancer Causes Control.* 10(1): 1-11 (1999)

Doong RA, Lee CY, Sun YC. Dietary intake and residues of organochlorine pesticides in foods from Hsinchu, Taiwan. *J AOAC Int.* 82(3):677-682 (1999)

Dupont W, Page D. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Eng J Med.* 312: 146 (1985)

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Effects of of adyuvant Tamoxifen and of citotoxic therapy on mortality in early breast cancer: an overview of 61 randomised trials among 28.896 women. *N Engl J Med.* 319: 1681-1692 (1998)

Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. Tamoxifen for early breast cancer: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 351: 1451-1467 (1998)

Emons G, Grundker C, Hanf V. Are estrogens carcinogens?. *Zentralbl Gynakol.* 124 (12): 559-565 (2002)

Environment and health. The European Charter and commentary. Copenhagen, WHO regional office for Europe, 1990. WHO Regional Publications, European Series N° 35.

European Commission: European Workshop on Impact of endocrine disruptors on human health and wildlife. Weybridge, UK (1996)

European Commission: European Workshops on Endocrine Disrupters Aronsborg, Sweden. (2001)

Falck F Jr, Ricci, A Jr, Wolf MS, Godbold J, Deckers P. Pesticides and Polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. *Arch Environ Health.* 47(2): 143-146 (1992)

Ferguson LR, Harris PJ. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. *Eur J Cancer Prev.* 8: 17-25 (1999)

Fernández MF, Pedraza, V, Olea, N. Estrogens in the environment: is there a breast cancer connection? *The Cancer Journal.* (11): 11-17 (1998)

Fernández MF. Significado biológico y análisis de la carga estrogénica total efectiva. Tesis Doctoral. Universidad de Granada (2001)

Fernández MF, Rivas A, Olea-Serrano F, Cerrillo I, Molina-Molina JM, Araque P, Martínez-Vidal JL, Olea N. Assessment of total effective xenoestrogen burden in adipose tissue and identification of chemicals responsible for the combined estrogenic effect. *Anal Bioanal Chem.* 379(1):163-170 (2004)

Fernández Alba AR, Aguera A, Contretas M, Penuela G, Ferrer I, Barceló D. Comparison of various sample handling and analytical procedures for the monitoring of pesticides and metabolites in ground waters. *J Chromatography.* 823:35-47 (1998)

Ferrer A, Bona MA, Castellano M, To-Figueras J, Brunet M. Organochlorine residues in human adipose tissue of the population of Zaragoza (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol.* 48:561-566 (1992)

Furberg AS, Sandanger T, Thune I, Burkow IC, Lund E. Fish consumption and plasma levels of organochlorines in a female population in Northern Norway. *J Environ Monit.* 4: 175-181 (2002)

Gammon MD, Wolf S, Neugut AI. Treatment for breast cancer and blood levels of chlorinated hydrocarbons. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 5: 467-471 (1996)

Gammon MD, Wolff MS, Neugut AI. Environmental toxins and breast cancer on Long Island II. Organochlorine compound levels in blood. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 11: 686-697 (2002)

García AM: Los niveles de prevención de los riesgos laborales. *Gac Sanit* 13: 173-176 (1999)

García Rodríguez J, García Martín M, Nogueras Ocaña M, Luna del Castillo JD, Olea Serrano N, Lardelli Claret P. Exposure to xenoestrogens and chryptorchidism: Geographyc evidence of a possible association. *Environ Healt Perspect.* 104: 1090-1095 (1996)

Gellert RJ, Heinrichs WL, Swerdloff RS. DDT homologues: estrogen-like effects on the vagina, uterus and pituitary of the rat. *Endocrinolgy.* 91: 1095-1100 (1972)

Gómez-Catalán J, Lezaun M, To-Figueras J, Corbella J. Organochlorine residues in the adipose tissue of the population of Navarra (Spain). *Bull Environ Contam Toxicol.* 54:534-540 (1995)

Grodstein F, Stampfer MJ, Colditz GA. Postmenopausal hormone therapy and mortality. *N Engl J Med.* 336: 1769-1775 (1997)

Gunderson EL. Dietary intakes of pesticides, selected elements and other chemicals. FDA Total Diet Study, June 1984-April 1986. *J AOAC Int* 78: 910-921 (1995)

Gupta PK, Gupta RC. Pharmacology, toxicology and degradation of endosulfan. *A Review Toxicol.* 13: 115-130 (1979)

Güttes S, Failling K, Neumann K, Kleinstein J, Georgii S, Brunn H. Chlororganic pesticides and polychlorinated biphenyls in breast tissue of women with benign and malignant breast disease. *Arch Environ Contam Toxicol.* 35: 149-147 (1998)

Hall DL, Payne LA, Putnam JM, Huet-Hudson YM. Effect of methoxychlor on implantation and embryo development in the mouse. *Reprod Toxicol.* 11(5):703-708 (1997)

Hankey B, Miller B, Ries L. SEER Cancer statistics review 1973-1990. National Institutes of Health Publication. Bethesda: National Institutes of Health 93-2789 (1993)

Hankinson SE, Willett WC, Manson JE, Colditz GA, Hunter DJ, Spiegelman D, Barbieri RL, Speizer FE. Plasma sex steroid hormone levels and risk of breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst.* 90(17): 1292-1299 (1998)

Hankinson SE, Colditz GA, Manson JE, Willett WC, Hunter DJ, Stampfer MJ, Speizer FE. A prospective study of oral contraceptive use and risk of breast cancer (Nurses` Health Study, United States)) *Cancer Causes Control.* 8(1): 65-72 (1997)

Hankinson SE, Stampfer MJ. Estrogens and breast cancer. *Salud Pública Mex.* 39(4): 370-378 (1997)

Hardell I, Lindström G, Liljegren G, Dahl P, Magnuson A. Increased concentrations of octachlorodibenzo-p-dioxin in cases with breast cancer- results from a case-control study. *Eur J Cancer Prev.* 5: 351-357 (1996)

Harris JR, Lippman ME, Veronesi U, Willett W. Breast cancer. *N Engl J Med.* 327: 319-328 (1992)

Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Huang H-Y, Hoffman SC, Strickland PT, Brock JW, Burse VW, Needham LL, Bell DA, Lavigne JA et al. Serum concentrations of organochlorine compounds and subsequent development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 8: 525-532 (1999)

Henderson BE, Ross RK, Pike MC, Casagrande JT. Endogenous hormones as a mayor factor in human cancer. *Cancer Res.* 42: 3232-3239 (1982)

Henderson BE, Ross RK, Judd HL, Krailo MD, Pike MC. Do regular ovulatory cycles increase breast cancer risk? *Cancer.* 56: 1206-1208 (1985)

Hernández F, Serrano R, Miralles MC, Font N. Gas liquid chromatography and enzyme-linked immune sorbent assay in pesticide monitoring of surface water from the Western Mediterranean (Comunidad Valenciana, Spain). *Cromatographia* 42:151-158 (1996)

Hoffman-Goetz L, Apter D, Demark-Wahnefried W, Goran MI, McTierry, Reichman ME. Possible mechanisms mediating an association between physical activity and breast cancer. *Cancer*. 83(Suppl 3): 621-628 (1998)

Holmes MD, Hunter DJ, Colditz GA et al. Association of dietary intake of fat and fatty acids with risk of breast cancer. *JAMA*. 281: 914-920 (1999)

Horwitz KB, Koseki Y, McGuire WL. Estrogen control of progesterone receptor in human breast cancer : role of estradiol and antiestrogen. *Endocrinology*. 103: 1742-1751 (1978)

Hoyer AP, Grandjen P, Jorgensen T, Brock JW, Hartving HB. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. *The Lancet*. 352: 1816-1820 (1998)

Hoyer AP, Grandjen P, Jorgensen T, Brock JW. Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol*. 53: 323-330. (2000a)

Hoyer AP, Grandjen P, Jorgensen T, Brock JW, Hartwig HB. Organochlorine compounds and breast cancer. Is there a connection between environmental pollution and breast cancer?. *Ugeskr Laeger*. 162(7): 922-926 (2000b)

Hoyer AP, Jorgensen T, Fritz R, Grandjean P. Organochlorine exposures influence on breast cancer risk and survival according to estrogen receptor status: a Danish cohort-nested case-control study. *BMC Cancer*. 1-8 (2001)

Hoyer AP, Gerdes AM, Jørgensen T, Fritz R, Hartvig HB. Organochlorines, p53 mutations in relation to breast cancer risk and survival. A Danish cohort case-controls study. *Breast Cancer Res & Treat*. 71: 59-65 (2002)

Hunter DJ, Hankinson SE, Laden F, Colditz GA, Manson JE, Willett WC, Speizer FE, Wolff MS. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med.* 337: 1253-1258 (1997)

IARC. DDT and associated compounds. *IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum.* 53: 179-249 (1991)

IARC. International Agency for Research on Cancer: Weight Control and Physical Activity. Lyon, France: IARC Press 2002.

Ibarluzea JM. Disruptores endocrinos y cáncer de mama. Estudio de casos y controles: Granada y Almería. Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco (2003)

Ibarluzea J, Fernández MF, Santa-Marina L, Olea-Serrano MF, Rivas AM, Aurrekoetxea JJ, Expósito J, Lorenzo M, Torné P, Villalobos M, Pedraza V, Sasco AJ, Olea N. Breast cancer risk and the combined effect of environmental estrogens. *Cancer Causes Control.* 15(6): 591-600 (2004)

Imbeault P, Chevrier J, Dewailly E, Ayotte P, Mauriege P, Despres JP, Tremblay A. Increase in plasma pollutant levels in response to weight loss in humans is related to in vitro subcutaneous adipocyte basal lipolysis. *International Journal of Obesity.* 25: 1585-1591 (2001)

International Programme on Chemical Safety. Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls. Geneva. World Health Organisation (1993)

International Programme on Chemical Safety. Environmental Health criteria for Hexachlorobenzene. Geneva. World Health Organisation (1996)

Jin L, Tran DQ, Ide CF, McLachlan JA, Arnold SF. Several synthetic chemicals inhibit progesterone receptor-mediated transactivation in yeast. *Biophys Res Commun.* 233:139-146 (1997)

Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter, JP. A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect.* 103:582-587 (1995)

Johnson-Thompson MC, Guthrie J. Ongoing research to identify environmental risk factors in breast cancer. *Cancer.* 88: 1224-1229 (2000)

Karlaganis G, Marioni R, Sieber I, Weber A. The elaboration of the Stockholm convention on persistent organic pollutants (POP): a negotiation process fraught with obstacles and opportunities. *Environ Sci Poll Res Int.* 8: 216-221 (2001)

Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LEJ, Kempainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite, p,p-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature.* 375: 581-585 (1995)

King SE, Schottenfeld D. The "epidemic" of breast cancer in the U.S. determining the factors. *Oncology.* 10(4): 453-462 (1996)

Kohlmeier L, Kohlmeier M. Adipose tissue as a medium for epidemiologic exposure assessment. *Environ Health Perspect.* 103 Suppl 3:99-106. Review (1995)

Krauthacker B, Reiner E, Votava-Raic A, Tjesic-Drinkovic D, Batanic D. Organochlorine pesticides and PCBs in human milk collected from mothers nursing hospitalized children. *Chemosphere.*37(1):27-32 (1998)

Krieger N, Wolff MS, Hiatt HA, Rivera M, Vogelmann J, Orentreich N. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and asian women. *J Natl Cancer Inst.* 86 (8): 589-599 (1994)

Lacey JV Jr, Devesa SS, Brinton LA. Recent trends in breast cancer incidence and mortality. *Environ Mol Mutagen.* 39: 82-88 (2002)

Laden F, Hankinson SE, Wolff MS, Colditz GA, Willett WC, Speizer FE, Hunter DJ. Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer: An extended follow-up in the Nurses' Health Study. *Int J Cancer*. 91:568-574 (2001)

Lázaro R, Herrera A, Arino A, Conchello MP, Babyarri S. Organochlorine pesticide residues in total diet samples from Aragon (Northeastern Spain). *J Agricultural Food Sciences*. 44: 2742-2747 (1996)

Lagueux J, Pereg D, Ayotte P, Dewailly E, Poirier GG. Cytochrome P450 CYP1A1 enzyme activity and DNA adducts in placenta of women environmentally exposed to organochlorines. *Environ Res*. 80: 369-382 (1999)

Li YF, Cai DJ, Singh A. Technical hexachlorocyclohexane use trends in China and their impact on the environment. *Arch Environ Contam Toxicol*. 35: 688-697 (1998)

Liljegren G, Hardell L, Lindström G, Dahl P, Magnuson A. Case-control study on breast cancer and adipose tissue concentrations of congener specific polychlorinated biphenyls, DDE and hexachlorobenzene. *Eur J Cancer Prev*. 7: 135-140 (1998)

Lippman ME, Huff KK, Jakesz R, et al. Estrogens regulate production of specific growth factors in hormone-dependent human breast cancer. *Ann N Y Acad Sci*. 464: 11-16 (1986)

López-Carrillo L, Blair A, López-Cervantes M, Cebrian M, Rueda C, Reyes R, Mohar A, Bravo J. Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case control study from México. *Cancer Res*. 57: 3728-3732 (1997)

López-Carrillo L, Torres-Sánchez L, López-Cervantes M, Blair A, Cebrián ME, Uribe M. The adipose tissue to serum dichlorodiphenyldichloroethane (DDE) ratio: some methodological considerations. *Environ Res*. 81: 142-145 (1999)

López-Abente G, Pollán M, Vergara A, Ardanaz E, Moreo P, Moreno C, Ruiz M. Tendencia temporal de la incidencia de cáncer en Navarra y Zaragoza. *Gaceta Sanitaria*. 14: 100-109 (2000)

López-Abente G, Pollán M, Aragonés N, Pérez-Gómez B, Hebar V, Suarez B, Cárdbaba M. Plan Integral del Cáncer: Situación del Cáncer en España. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo (2003)

Lupulescu A. Estrogen use and cancer incidence: a review. *Cancer Invest*. 13: 287-295 (1995)

Madigan MP, Zielger RG, Benichou J, Byrne C, Hoover RN, Proportion of breast cancer cases in the United States explained by well-established risk factors. *J Natl Cancer Inst*. 87: 1681-1685 (1995)

Magnusson C, Baron JA, Correia N, Bergstrom R, Adami HO, Persson I. Breast-cancer risk following long-term oestrogen and oestrogen-progestin-replacement therapy. *Int J Cancer*. 81: 339-344 (1999)

Maier-Bode H. Properties, effect residues and analytics of the insecticide endosulfan. *Residue Rev*. 22: 1-44 (1968)

McCann SE, Moysich KB, Freudenheim JL, Ambrosone CB, Shields PG. The risk of breast cancer associated with dietary lignans differs by CYP17 genotype in women. *Journal Nutr*. 132(10): 3036-3041 (2002)

McLachlan, JA. Functional toxicology: a new approach to detect biologically active xenobiotics. *Environ Health Perspect*. 101: 386-387 (1993)

Medina MB, Sherman JT. HPLC separation of anabolic oestrogens and ultraviolet detection of 17-beta oestradiol, zeranol, diethylstilboestrol or zearalenone in avian muscle tissue extracts. *Food Aditives Contaminants*. 3: 263-272 (1986)

Mendoça GAS, Eluf-Neto J, Andrada-Serpa MJ, Carmo PAO, Barreto HHC, Inomata ONK, Kussumi TA. Organochlorines and breast cancer: A case-control study in Brazil. *Int J Cancer*. 83: 596-600 (1999)

Millikan R, DeVoto E, Duell EJ, Tse C-K, Savitz DA, Beach J, Edmiston S, Jackson S, Newman B. Dichlorodiphenyldichloroethene, polychlorinated biphenyls, and breast cancer among african-american and white women in North Carolina. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. 9: 1233-1240 (2000)

Morgan DP, Roan CC. Adsorption, storage and metabolic conversion of ingested DDT and DDT metabolites in man. *Arch Environ Health*. 22: 301-308 (1971)

Morgan DP, Roan CC, Paschal EH. Transport of DDT, DDE and dieldrin in human blood. *Bull Environ Contam Toxicol*. 8: 321-326 (1972)

Moysich KB, Ambrosone CB, Vena JE, Shields PG, Mendola P, et al. Environmental organochlorine exposure and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*. 7:181-188 (1998)

Mussalo-Rauhamaa H, Häsänen E, Pyysalo H, Antervo K, Kauppila R, Pantzar P. Occurrence of beta-hexachlorocyclohexane in breast cancer patients. *Cancer*. 66: 2124-2128 (1990)

Mustafa IA, Bland KI, Physiologic effects of steroid hormones and postmenopausal hormone replacement on the female breast and breast cancer risk. *Ann Surg*. 228: 638-651 (1998)

Nandi S, Guzman RC, Yang J. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats and humans: a unifying hypotesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 92: 3650-3657 (1995)

Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. *Environ Health Perspect.* 105(1): 70-76 (1997)

Needham LL, Burse VW, Head SL, Korver MP, McClure PC, Andrews JS, Rowley DL, Sung J, Kahn SE. Adipose tissue/serum partitioning of chlorinated hydrocarbon pesticides in humans. *Chemosphere* 20: 975-980 (1990)

Newcomb P, Storer B, Longnecker M, Mittendorf R, Greenberg ER, Clapp RW. Lactation and a reduced risk of premenopausal breast cancer. *N Eng J Med.* 330: 81 (1994)

Ohi G. Endocrine disrupting chemicals and carcinogenicity. *Gan To Kagaku Ryoho.* 26(3): 263-268 (1999)

Okond´ahoka O, Lavaur E, Le Sech J, Phu Lich N, Le Moan G. Etude de l'impregnation humaine par les pesticides organo-halogenes au Zaire. *Ann Fals Exp Chim.* 77: 531-538 (1984)

Olaya-Contreras P, Rodriguez-Villamil J, Posso-Valencia HJ, Cortez JE. Organochlorine exposure and breast cancer risk in Colombian women. *Cad Saúde Pública.* 14: 125-132 (1998)

Olea N, Molina MJ, García-Martin M, Olea-Serrano MF: Modern agricultural practices: The human price. En: *Endocrine disruption and Reproductive effects in Wildlife and Humans.* Soto AM, Sonnenschein C, Y Colborn T. Eds. *Comments in Toxicology.* 455-474 (1996)

Olea N, Barba A, Lardelli P, Rivas A, Olea-Serrano MF. Innanvertent exposure to xenoestrogens in children. *Toxicol Industrial Health.* 15:151-158 (1999)

Olea N, Fernández MF, Araque P, Olea-Serrano F. Perspectivas en disrupción endocrina. *Gaceta Sanitaria.* 16: 250-256 (2002)

Osborne MP, Bradlow HL, Wong GY, Teland, NT. Upregulation of estradiol C16 alpha-hydroxylation in human breast tissue: a potential biomarker of breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 85: 1917-1920 (1993)

Ousterhout J, Struck RF, Nelson JA. Estrogenic activities on methoxychlor metabolites. *Biochem Pharmacol.*30(20): 2869-2871 (1981)

Paffenbarger RS Jr, Kampert JB, Chang HG. Characteristics that predict risk of breast cancer before and after menopause. *Am J Epidemiol.* 112: 258-268 (1980)

Pardio VT, Waliszewski KN, Landin LA, Bautista RG. Organochlorine pesticide residues in cow's milk from a tropical region of Mexico. *Food Addit Contam.* 20:259-269 (2003)

Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. Cancer Statistics 1996. *CA Cancer J Clin.* 46(1): 5-27 (1996)

Parrón T, Hernández AF, Pla A, Villanueva E. Clinical and biochemical changes in greenhouse sprayers chronically exposed to pesticides. *Hum Exp Toxicol.* 15: 957-963 (1996)

Paulozzi LJ, Erickson JD, Jackson RJ. Hypospadias trends in two US surveillance systems. *Pediatrics* 100: 831-834 (1997)

Pauwels A, Covaci A, Weyler J, et al. Comparison of persistent organic pollutant residues in serum and adipose tissue in a female population in Belgium, 1996-1998. *Arch Environ Contam Toxicol.* 39: 265-270 (2000)

Pazos P, Pérez P, Rivas A, Nieto R, Botella B, Crepo J, Olea-Serrano MF, Fernández MF, Expósito J, Olea N, Pedraza, V. Development of a marker of estrogenic exposure in breast cancer patients. In: *Reproductive Toxicology: In vitro Germ Cell Developmental Toxicology, from Science to Social and Industrial Demand*. Ed. J. del Mazo, Plenum Publishing Co. Plenum Press, New York, NY. pp 29-40 (1998)

Pelletier C, Doucet E, Imbeault P, Treamblay. Associations between weight loss-induced changes in plasma organochlorine concentrations, serum T3 concentration and resting metabolic rate. *Toxicol Sci.* 67(1): 46-51 (2002)

Pelletier C, Imbeault P, Treamblay A. Energy balance and pollution by organochlorines and polychlorinated biphenyls. *Obes Rev.* 4(1):17-24 (2003)

Penuela GA, Barceló D. Application of C-18 disks followed by gas chromatography techniques to degradation kinetics, stability and monitoring of endosulfan in water. *J Chromatography.* 795: 93-104 (1998)

Petreas M, Smith D, Hurley S, Stefanie S, Gillis D, Reynolds P. Distribution of persistent, lipid-soluble chemicals in breast and abdominal adipose tissues: lessons learned from a breast cancer study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 13(3): 416-424 (2004)

Persson I, Weiderpass E, Bergkvist L, Bergstrom R, Scharier C. Risks of breast and endometrial cancer after estrogen and estrogen-progestin replacement. *Cancer Causes Control.* 10: 253-260 (1999)

Phillips DL, Pirkle JL, Burse VW, Bernet JT, Henderson LO, Needham LL. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch Environ Contam Toxicol.* 18: 495-500 (1989)

Pike MC, Henderson BE, Krailo MD, Duke A, Roy S. Breast cancer in young women and use of oral contraceptives: possible modifying effect of formulation and age at use. *Lancet.* 2: 926-930 (1983)

Pike MC, Spice DV, Dahmouh L, Press MF. Estrogens, progestogens, normal breast cell proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev.* 15: 17-35 (1993)

Pollán M. Cáncer de mama en mujeres y ocupación: Revisión de la evidencia existente. *Gaceta Sanitaria.* 15 (Suppl 4): 3-22 (2001)

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

Porta M, Kogevinas M, Zumeta E, Sunyer J, Ribas-Fitó N, y el Grupo de Trabajo sobre Compuestos Tóxicos Persistentes y Salud del IMIM. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población española: el rompecabezas sin piezas y la protección de la salud pública. *Gaceta Sanitaria.* 16: 268-277 (2002)

Porta M, Zumeta E. Implementing the Stockholm treaty on persistent organic pollutants. *Occup Environ Med.* 59: 651-653 (2002)

Potischman N, Swanson CA, Coates RJ. Intake of food groups and associated micronutrients in relation to risk of early-stage breast cancer. *Int J Cancer.* 82: 315-321 (1999)

Preston-Martin S, Pike MC, Ross RK, Jones PA, Henderson BE. Increased cell division as cause of human cancer. *Cancer Res.* 50: 7415-7421 (1990)

Purohit A, Reed MJ. Regulation of estrogen synthesis in postmenopausal women. *Steroids.* 67(12): 979-983 (2002)

Ren L, Lattier D, Lech JJ. Estrogenic activity in rainbow trout determined with a new cDNA probe for vitellogenesis, pSG5g1.1. *Bull Environ Contam Toxicol.* 52: 287-294 (1996)

Ribas-Fitó N, Sunyer, J, Sala M, Grimalt, JO. Cambios en las concentraciones de compuestos organoclorados en las mujeres de Flix, Tarragona. *Gaceta Sanitaria.* 17: 309-311 (2003)

Rivas A, Olea N, Olea-Serrano MF. Human exposure to endocrine-disrupting chemicals: assessing the total estrogenic xenobiotic burden. *Trens Analytical Res.* 16: 613-619 (1997)

Rivas A, Pérez P, Crespo J, Ibarluzea J, Vidaña E, Fernández MF, Olea-Serrano MF, Olea N. Organochlorine pesticide residues and breast cancer. Second European Pesticide Residue Workshop, Almería: 197 (1998)

Rivas AM. Análisis de sustancias estrogénicas en tejido adiposo: Marcador de exposición en cáncer de mama. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. (1999)

Rivas A, Fernández MF, Cerrillo I, Ibarluzea J, Olea-Serrano MF, Pedraza V, et al. Human exposure to endocrine disrupters: standardization of a marker of estrogenic exposure in adipose tissue. *APMIS.* 103: 189-201 (2001)

Rivas A, Lacroix M, Olea-Serrano F, Laios I, Leclercq G, Olea N. Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF-7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 82:45-53 (2002)

Romieu I, Hernández-Avila M, Lazcano-Ponce E, Weber J, Dewailly E. Breast cancer, lactation history, and serum organochlorines. *Am J Epidemiol.* 152: 363-370 (2000)

Rosner B, Colditz GA. Nurses' Health Study: log incidence mathematical model of breast cancer incidence. *J Natl Cancer Inst.* 88: 359-364 (1996)

Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC, Soto AM. Perinatal exposure to low doses of bisphenol-A affects body weight, patterns of estrous cyclicity and plasma LH levels. *Environ Health Perspect.* 109: 675-680 (2001)

Russo IH, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. *J Mam Gland Biol Neoplasia.* 3: 49-61 (1998)

Sainz C, Cortina P, Gil A, Zaragoza R, Cortes C. Cáncer de mama: investigación epidemiológica retrospectiva de casos y controles. *Clin Invest Ginecol.* 16: 3 (1989)

Sala M, Sunyer J, Otero R, Santiago-Silva M, Camps C, Grimalt JO. Organochlorine compound concentration in the serum of inhabitants living near an electrochemical factory. *Occup Environ Med.* 56: 152-158 (1999)

Sala M, Ribas-Fitó N, Cardo E, de Muga ME, Marco E, Mazón C. Levels of hexachlorobenzene and other organochlorine compounds in cord blood: exposure across placenta. *Chemosphere.* 43: 895-901 (2001)

Santen RJ, Leszczynski D, Tilson-Mallet N, et al. Enzymatic control of estrogen production in human breast cancer: relative significance of aromatase versus sulfatase pathways. *Ann N Y Acad Sci.* 464: 126-137 (1986)

Sasco AJ. Breast cancer and the environment. *Horm Res.* 60 (Suppl 3): 50 (2003)

Schairer C, Lubin J, Troisi R, Sturgeon S, Brinton L, Hoover R. Menopausal estrogen and estrogen-progestin replacement therapy and breast cancer risk. *JAMA.* 283: 485-491 (2000)

Schepens PJC, Covaci A, Jorens PG, Hens L, Scharpé S, Van Larebeke N. Surprising findings following a Belgian food contamination with polychlorobiphenyls and dioxins. *Environ Health Perspect.* 109: 101-103 (2001)

Seba DB, Snedaker SC. Frequency of occurrence of organochlorine pesticides in sea surface slicks in Atlantic and Pacific coastal waters. *Mar Res.* 4: 27-32 (1995)

Sharpe RM, Fisher JS, Millar MM, Jobling S, Sumpter JP. Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environ Health Perspect.* 103: 1136-1143 (1995)

Skaare JU, Polder A. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in milk of Norwegian women during lactation. *Arch Environ Contam Toxicol.* 19(5):640-645 (1990)

Skakkebaek NE, Rajpert-de Meyts E, Jorgensen N, Carlsen E, Petersen PM, Giwercman A, Andersen AG, Jensen TK, Andersson AM, Muller J. Germ cell cancer and disorders of spermatogenesis: an environmental connection? *APMIS* 106: 3-11; discussion 12 (1998)

Sillero M, Delgado M, Rodríguez R, Bueno A, Gálvez R. Menopausal hormone replacement therapy and breast cancer: A meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 79: 286 (1992)

Smith RA, Giusti RM. Pathogenesis and epidemiology of breast cancer. *Gynecologic Oncology: Current Diagnosis and Treatment.* 272-286 (1996)

Snedeker SM, DiAgustine RP. Hormonal and environmental factors affecting cell proliferation and neoplasia in the mammary gland. In: *Cellular and Molecular Mechanisms of Hormonal Carcinogenesis* (HuffJ, Boyd J, Barret JC, eds). New York: Wiley-Liss. 211-253 (1996)

Snedeker S. Pesticides and Breast Cancer Risk: A review of DDT, DDE and Dieldrin. *Environ Health Perspectives.* 109 (Suppl 1): 35-47 (2001)

Sohoni P, Sumpter JB. Several environmental oestrogens are also antiandrogens. *J Endocrinol.* 158: 327-339 (1998)

Sonnenschein C, Soto AM, Fernández MF, Olea N, Olea-Serrano MF, Ruiz-López MD. Development of a marker of estrogenic exposure in human serum. *Clin Chem* 41: 1888-1895 (1995)

Sonnenschein C, Soto AM. An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *J Steroid Biochem Molec Biol.* 65:143-150 (1998)

Soto AM, Lin TM, Justicia H, Silvia RM, Sonnenschein C. An in culture bioassay to assess the estrogenicity of xenobiotics. En: *Chemically Induced Alterations in Sexual Development: The Wildlife/Human Connection*. T. Colborn, Clement C.R., eds. Princeton Scientific Publishing, Princeton, 295-309 (1992)

Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernández MF, Olea N, Olea Serrano MF. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect.* 103(Suppl 3): 113-122 (1995)

Soto AM, Michaelson CL, Prechtl NV, Weill BC, Sonnenschein C, Olea-Serrano F, Olea, N. Assays to measure estrogen and androgen agonists and antagonists. *Adv Exp Med Biol.* 444: 9-23 (1998)

Soule HD, Vazquez J, Long A, Albert S, Brennan MJ. A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst.* 51: 1400-1413 (1973)

Steinberg K, Thacker S, Smith S, Stroup DF, Zack MM, Flanders WD, Berkelman RL. A meta-analysis of the effect of estrogen replacement therapy on the risk of breast cancer. *JAMA.* 265: 1985 (1991)

Stellman SD, Djordjevic MV, Muscat JE, Gong L, Bernstein D, Citron ML, White A, Kemeny M, Bush E, Nafziger AN. Relative abundance of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose tissue and serum of women in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 7:489-496 (1998)

Stellman SD, Djordjevic MV, Britton JA, Muscat JE, Citron ML, Kemeny M, Busch E, Gong L. Breast cancer risk in relation to adipose concentrations of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 9: 1241-1249 (2000)

Stresser DM, Kupfer D. Human cytochrome P450-catalyzed conversion of the proestrogenic pesticide methoxychlor into an estrogen. Role of CYP2C19 and CYP1A2 in O-demethylation. *Drug Metab Dispos.* 26(9):868-874 (1998)

Szymczak J, Milewicz A, Thijssen JH, Blankenstein M, Daroszewski J. Concentration of sex esterooids in adipose tissue after menopause. *Steroids.* 63: 319-321 (1998)

Thomas KB, Colborn T. Organochlorine endocrine disrupters in humans tissue. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The Wildlife/Human connection (Colborn T, Clement C eds.). *Adv Mod Environ Toxicol.* 21: 365-394 (1992)

Thomas HV, Key TJ, Allen DS et al. Re: reversal of relation between body mass and endogenous estrogen concentrations with menopausal status. *J Natl Cancer Inst.* 89: 396-398 (1997)

Thompson LU, Rickard SE, Orcheson LJ, Seidl MM. Flaseed and its lignan and oil components reduce mammary tumor growth at a late stage of carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 17: 1373-1376 (1996)

To-Figueras J, Barrot C, Rodamilans M, Gómez Catalán J, Torra M, Brunet M, Sabater F, Corbella J. Accumulation of hexachlorobenzene in humans: A long stading risk. *Hum Exp Toxicol.* 14: 20-23 (1995)

Travis RC, Key TJ. Oestrogen exposure and breast cancer. *Breast Cancer Res.* 5: 239-247 (2003)

Tryggvadottir L, Tulinius H, Gudmundsdottir GB. Oral contraceptive use at a young age and the risk of breast cancer: an Icelandic, population-based cohort study of the effect of birth year. *Br J Cancer.* 75: 139-143 (1997)

Turusov V, Rakitsky V, Tomatis L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): Ubiquity, Persistence and Risks. *Environ Health Perspect.* 110: 125-128 (2002)

Unger M, Kiær H, Blichert-Toft M, Olsen J, Clausen J. Organochlorine compounds in human breast fat from deceased with and without breast cancer and in biopsy material from newly diagnosed patients undergoing breast surgery. *Environ Res.* 34: 24-28 (1984)

Ursin G, Henderson BE, Haile RW. Does oral contraceptive use increase the risk of breast cancer in women with BRCA1/BRCA2 mutations more than in other women? *Cancer Res.* 57: 3678-3781 (1997)

Ursin G, Ross RK, Sullivan-Halley J, Hanisch R, Henderson B, Bernstein L. Use of oral contraceptives and risk of breast cancer in young women. *Breast Cancer Res Treat.* 50: 175-184 (1998)

U.S. EPA. Suspended, Canceled and Restricted Pesticides. EPA 20T-1002. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency, EPA.

Valenzuela Torres, B. Determinación del efecto estrogénico de plaguicidas organoclorados. Tesis Doctoral. Universidad de Granada (1996)

van 't Veer P, Lobbezoo IE, Martín-Moreno JM, Guallar E, Gómez-Aracena J, Kardinaal AFM, Kohlmeier L, Martin BC, Strain JJ, Thamm M, van Zoonen P, Baumann BA, Huttunen JK, Kok FJ. DDT (dicophane) and postmenopausal breast cancer in Europe: case-control study. *Br Med J.* 315: 81-85 (1997)

Verkasalo KTJ, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *Lancet Oncol.* 2: 133-140 (2001)

Vidal JLM, González FJE, Glass CR, Galera MM, Cano MLC. Analysis of lindane, alpha, endosulfan, beta-endosulfan and endosulfan sulfate in greenhouse air by gas chromatography. *J Chromatography A.* 765: 99-108 (1996)

Vihko RK, Apter DL. Steroids and the risk of breast cancer. *Adv Contracept Deliv Syst.* 2(2-3): 198-207 (1986)

Villalobos M, Olea N, Brotons JA, Olea-Serrano MF, Ruíz de Almodovar JM, Pedraza V. The E-Screen assay: a comparison of different MCF7 cell stocks. *Environ Health Perspect.* 103: 844-850 (1995)

vom Saal FS. Environmental estrogenic chemicals: their impact on embryonic development. *Human Ecol Risk Assess.* 1: 3-15 (1995)

vom Saal FS, Nagel SC, Palanza P, Boechler M, Parmigiani S, Welshons WV. Estrogenic pesticides: binding relative to estradiol in MCF-7 cells and effects of exposure during fetal life on subsequent territorial behaviour in male mice. *Toxicol Lett.* 77(1-3):343-350 (1995)

Vonier PM, Crain DA, MacLachlan JA, Guillette LJ, Arnold SF. Interactions of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. *Environ Health Perspect.* 104:1318-1322 (1996)

Waliszewski SM, Villalobos-Pietrini R, Gomez-Arroyo S, Infanzon RM. Persistent organochlorine pesticide levels in cow's milk samples from tropical regions of Mexico. *Food Addit Contam.* 20:270-275 (2003)

Wang L. Mammalian phytoestrogens: enterodiol and enterolactone. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 777(1-2): 289 (2002)

Ward EM, Schulte P, Grajewski B. Serum organochlorine levels and breast cancer: A nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9: 1357-1367 (2000)

Weidner IS, Moller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gradeners and farmers. *Environ Health Perspect.* 106: 793-796 (1998)

Welch RM, Levin W, Conney AH. Estrogenic action of DDT and its analogs. *Toxicol Appl Pharmacol.* 14: 358-367 (1969)

Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, Rivera M, Dubin N. Blood levels of organochlorines residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 85: 648-653 (1993)

Wolff M, Zeleniuch-Jaquotte A, Dubin N, Toniolo P. Risk of breast cancer and organochlorines exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 9: 271-277 (2000)

Yager JD, Liehr JG. Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 36: 203-232 (1996)

Zhang S, Hunter DJ, Forman MR. Dietary carotenoids and vitamins A, C and E and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 91: 547-556 (1999)

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Owens PH, Ward B, Carter D, Dubrow R, Zahm SH, Boyle P, Tessari J. β -benzene hexachloride in breast adipose tissue and risk of breast carcinoma. *Cancer.* 85(10): 2212-2218 (1999a)

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Ward B, Carter D, Owens PH, Dubrow R, Zahm SH, Boyle P, Archibeque S, Tessari J. DDE and DDT in breast adipose tissue and risk of female breast cancer. *Am J Epidemiol.* 150: 453-458 (1999b)

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Tessari J, Owens PH, Zahm SH, Zhang B, Dubrow R, Ward B, Carter D, Boyle P. Environmental exposure to hexachlorobenzene (HCB) and risk of female breast cancer in Connecticut. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 8: 407-411 (1999c)

Zheng T, Holford TR, Mayne ST, Tessari J, Ward B, Carter D, Owens PH, Boyle P, Dubrow R, Archibeque-Engle S, Dawood O, Zahm SH. Risk of female breast cancer associated with serum polychlorinated biphenyls and 1,1-dichloro-2,2'-bis(*p*-chlorophenyl) ethylene. *Cancer Epidemiol Biomark Prev.* 9: 167-174 (2000)